



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ HAYDARPAŞA NUMUNE
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ KLİNİĞİ

**DENEYSEL SPİNAL KORD YARALANMASINDA, PANİTUMUMAB'IN
TEK BAŞINA VE ANTİOKSİDAN MOLEKÜLLER İLE
KULLANIMININ, OKSİDATİF STRES VE HİSTOPATOLOJİK
PARAMETRELER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Duygu Ceman

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2019



**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ HAYDARPAŞA NUMUNE
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ KLİNİĞİ

**DENEYSEL SPİNAL KORD YARALANMASINDA, PANİTUMUMAB'IN
TEK BAŞINA VE ANTİOKSİDAN MOLEKÜLLER İLE
KULLANIMININ, OKSİDATİF STRES VE HİSTOPATOLOJİK
PARAMETRELER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Duygu Ceman

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Arif Tarkan Çalışaneller

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2019

TEŞEKKÜR

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Kliniği'ndeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen klinik şefimiz, tez danışmanım, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Arif Tarkan Çalışaneller'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Nöroşirürji eğitimin boyunca beni destekleyen, ufkumu açan, bilgi ve deneyimini sınırsız aktaran Doç. Dr. Merih İş'e, eski klinik şeflerimizden, uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini sabırla aktaran, yol gösteren Uzm. Dr. Hakan Somay'a ve Doç. Dr. Selin Tural Emon'a teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Eğitimimde büyük rol üstlenen, asistanlığım süresince bilgi ve becerisinden devamlı fayda gördüğüm değerli hocalarım ve uzmanlarım Doç. Dr. Metin Orakdoğan'e, Op. Dr. Necat Biber'e, Op. Dr. Cem Akkurt'a, Op. Dr. Ezgi Akar'a, Op. Dr. Mustafa Efendioğlu'na, Op. Dr. Aydın Gerilmez'e, Uzm. Dr. Gül Ebru Geren'e, Doç. Dr. Tamer Altay'a, Op. Dr. Ufuk Akmil'e teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim.

Çalışmaktan keyif aldığım, değerli dostlarım Op. Dr. Barış Erdoğan'a ve Op. Dr. Taner Engin'e, klinikte her daim yanımda olan sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Mehmet Emin Bektaş'a, Dr. Nahid Rustamov'a, Dr. Mazhar Mammadov'a, Dr. Ömer Faruk Şahin'e, Dr. Abdullah Yolcu'ya, Dr. Fatih Toprak'a, Dr. Hasan Ferhat Kurs'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin ortaya çıkmasında emeği geçen, klinik patolojiden, sevgili hocam Prof. Dr. Fügen Vardar Aker'e ve Polen Acar'a, Tıbbi Biyokimyadan Prof. Dr. Mevlüt Sait Keleş'e ve Dr. Hilal Yalçın Öztürkeri'ne teşekkürlerimi sunarım.

Serviste ve ameliyathanede birlikte çalıştığım tüm hemşire-personel arkadaşlarıma ve klinik sekreterlerimize teşekkürlerimi sunarım.

Bu yolculukta beni her daim destekleyen ve yalnız bırakmayan aileme, sınırsız desteğini ve sevgisini gösteren sevgili eşim Ertuğrul Ceman'a ve eğitim hayatımı daha da anlamlı kılan sevgili kızım Mila Ceman'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Duygu Ceman

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMA LİSTESİ.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER	5
GEREÇ VE YÖNTEM... ..	22
BULGULAR.....	29
TARTIŞMA... ..	50
SONUÇLAR... ..	54
KAYNAKLAR... ..	55
ÖZGEÇMİŞ... ..	62
EKLER.....	65

KISALTMA LİSTESİ

EGF:	Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR:	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
GSH:	Glutasyon
GSH-PX:	Glutasyon Peroksidaz
GSSG-R:	Glutasyon Redüktaz
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit
KAT:	Katalaz
LA:	Alfa Lipoik Asit
MP:	Metilprednizolon
NAC:	N-Asetil Sistein
PAB:	Panitumumab
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri
TRH:	Tirotropin Salınma Hormonu
TSKH:	Travmatik Spinal Kord Hasarı

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Deney gruplarının şematik gösterimi

Tablo 2: GPX-1ve TAS ELISA kitleri performans verileri

Tablo 3: Gruplarda 10.dakika TAS Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Tablo 4: Takiplerdeki TAS Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Tablo 5: Gruplarda 10.dakika GPX-1 Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Tablo 6: TakiplerdekiGPX-1 Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Tablo 7: Kontrol grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

Tablo 8: Sham grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

Tablo 9: PAB grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

Tablo 10: PAB+LA grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

Tablo 11: PAB+NAC grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

Tablo 12: PAB+NAC+LA grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

Tablo 13: Gruplara Göre Patoloji Sonuçlarının Değerlendirilmesi

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1:** Spinal kord hasarı sonrası gelişen primer ve sekonder hasarın şematik gösterilmesi
- Şekil 2:** Nöral tüp gelişimi (University of Michigan, Anatomy Department)
- Şekil 3:** Omurgayı oluşturan kemik yapılar (Sobotta; Atlas of Human Anatomy)
- Şekil 4:** Spinal kord ve spinal sinirler, A:Lateral bakış B:Posteriyor bakış (Netter Atlas of Human Anatomy)
- Şekil 5:** Omurilik arteriyel beslenmesi (Anatomy of spinal blood supply)
- Şekil 6:** Omurilik venöz drenajı (Anatomy of spinal blood supply)
- Şekil 7:** Antioksidan savunma mekanizması (Armstrong 1998)
- Şekil 8:** Antioksidan savunma sistemi
- Şekil 9:** Biyokimya kitinin reaksiyon sonrası görünümü
- Şekil 10:** 10.dakika TAS ölçümleri dağılımı
- Şekil 11:** Takiplerdeki TAS ölçümlerinin dağılımı
- Şekil 12:** 10.dakika GPX-1 ölçümleri dağılımı
- Şekil 13:** Takiplerdeki GPX-1 ölçümlerinin dağılımı
- Şekil 14:** Kontrol grubu patolojik incelemesi
- Şekil 15:** Sham grubu patolojik incelemesi
- Şekil 16:** PAB grubu patolojik incelemesi
- Şekil 17:** PAB+LA grubu patolojik incelemesi
- Şekil 18:** PAB+NAC grubu patolojik incelemesi
- Şekil 19:** PAB+NAC+LA grubu patolojik incelemesi
- Şekil 20:** Ödem varlığına ilişkin dağılım
- Şekil 21:** Nekroz varlığına ilişkin dağılım
- Şekil 22:** Kanama varlığına ilişkin dağılım
- Şekil 23:** Enflamatuar hücre varlığına ilişkin dağılım

ÖZET

Deneysel travmatik spinal kord hasarı yapılan sıçanlarda bir EGFR antagonisti olan Panitumumab'ın tek başına ve antioksidan moleküller ile kombine kullanımının, spinal kord hasarı sonrası gözlenen oksidatif stres ve histopatolojik parametreler üzerine etkilerinin araştırılması

Amaç: Sıçanlarda oluşturulan deneysel spinal kord hasarı sonrası uygulanan Panitumumab'ın, hasarın akut döneminde biyokimyasal markerlar (Total antioksidan aktivitesi ve Glutasyon Peroksidaz) ve histopatolojik parametreler üzerinden etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç veYöntem: Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya ve Klinik Patoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma, 6 gruptan oluşmakta olup, kontrol grubunda 6 adet, diğer gruplarda 8 adet olmak üzere toplamda 46 adet Sprague-Dawley sıçan üzerinde çalışıldı. Kontrol grubuna cerrahi işlem uygulanmadı. Sham grubuna T9-10-11 laminektomi yapıldı ve serum fizyolojik uygulandı. Diğer dört gruba, T9-10-11 laminektomiyi takiben dura ortaya kondu ve Yaşargil Anevrizma Klibi ile dura ve omurilik kompresyonu yapılarak dura ve spinal kord hasarı oluşturuldu. Travma sonrası Panitumumab grubuna 6mg/kg Panitumumab, Panitumumab+ Alfa Lipoik Asit grubuna 6 mg/kg Panitumumab + 50mg/kg Alfa lipoik asit, Panitumumab + N-Asetil Sistein grubuna 6 mg/kg Panitumumab + 100 mg/kg N-Asetil Sistein, Panitumumab + Alfa Lipoik Asit + N-Asetil Sistein grubuna 6 mg/kg Panitumumab + 50 mg/kg Alfa Lipoik Asit + 100 mg/kg N-Asetil Sistein intraperitoneal olarak uygulandı. Deneklerin 10.dakika, 24.saat ve 5.gün venöz kanları alındı ve santrifüje edildi. Serum örnekleri Elisa kitlerinde (GPX-1 ve TAS) çalışılarak biyokimyasal parametrelerin çalışıldı. Denekler, cerrahi işlem sonrası 120.saatte sakrifiye edilerek, spinal kord örnekleme yapıldı ve patolojik inceleme için klinik patoloji laboratuvarına götürüldü.

Bulgular: Biyokimyasal parametleri TAS ve GPX-1 üzerinden değerlendirdiğimizde, PAB, PAB+LA, PAB+NAC ve PAB+LA+NAC gruplarında 10.dakika, 24.saat ve 5.gün verilerinde anlamlı sonuçlar saptanmıştır. Histopatolojik olarak baktığımızda ise PAB+LA grubunda nekroz oranının anlamlı olarak daha düşük olduğu görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışmadaki veriler eşliğinde travmatik spinal kord travması tedavisinde bir EGFR antagonisti olan Panitumumab'ın tek başına kullanımın etkili olabileceği, ancak nöroprotektif ve antioksidan etkinliği olan LA ve NAC ile kombine kullanılması durumunda biyokimyasal parametreler ve histopatolojik değerler açısından bakıldığında bu etkinliğin daha da arttığı deneysel olarak gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Travmatik Spinal Kord Hasarı, Panitumumab, Oksidatif Stres, Epidermal Büyüme Faktörü, EGFR

ABSTRACT

Investigation of the effects of Panitumumab, an EGFR antagonist alone and in combination with antioxidant molecules, on oxidative stress and histopathologic parameters observed after experimental traumatic spinal cord injury in rat

Aim: Spinal cord injury is a major health problem due to the disability it causes. The aim of this study was to investigate the effects of panitumumab applied after experimental spinal cord injury in rats on biochemical markers (Total antioxidant activity and Glutathione peroxidase) and histopathological parameters in the acute period of injury.

Material and Metod: This study was performed at Sağlık Bilimleri University Medical Faculty Experimental Animal Center, Clinical Biochemistry and Clinical Pathology Laboratories of Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey. 46 Sprague-Dawley rats were separated in 6 random groups. Control group was 6 rats and the other five groups were 8 rats in each group. Surgery was not performed in the control group. Sham group underwent only laminectomy and saline was applied. In the other four groups, dura and spinal cord compression was performed with the Yaşargil Aneurysm Clip after T9-10-11 laminectomy and dura and spinal cord injury was created. 6 mg/kg Panitumumab was administered by intraperitoneal to Panitumumab group, 6 mg / kg Panitumumab + 50 mg / kg Alpha Lipoic Acid was administered by intraperitoneal to Panitumumab + Alpha Lipoic Acid group, 6 mg / kg Panitumumab + 100 mg / kg N-acetyl Cysteine was administered by intraperitoneal to Panitumumab + N-acetyl Cysteine group, 6 mg / kg Panitumumab + 50 mg / kg Alpha Lipoic Acid + 100 mg / kg N-Acetyl Cysteine was administered by intraperitoneal to Panitumumab + Alpha Lipoic Acid + N-Acetyl Cysteine group. Venous blood was collected at 10th min, 24th hours and 5th days and centrifuged. Serum samples were studied in Elisa kits (GPX-1 and TAS) and biochemical parameters were studied. The subjects were sacrificed at 120 hours postoperatively, and the spinal cord was sampled and taken to the clinical pathology laboratory for pathological examination.

Results: When we evaluated biochemical parameters TAS and GPX-1, PAB, PAB + LA, PAB + NAC and PAB + LA + NAC groups showed significant results at 10th, 24th and 5th day. Histopathologically, the rate of necrosis was significantly lower in the PAB + LA group.

Conclusion: In this study, it was shown that Panitumumab, an EGFR antagonist, may be effective in the treatment of traumatic spinal cord trauma. However, Panitumumab has been shown to be more effective in terms of biochemical parameters and histopathological values when combined with neuroprotective and antioxidant activity LA and NAC.

Key Words: Traumatic spinal cord injury, Panitumumab, Oxidative stress, Epidermal growth factor, EGFR

1. GİRİŞ ve AMAÇ

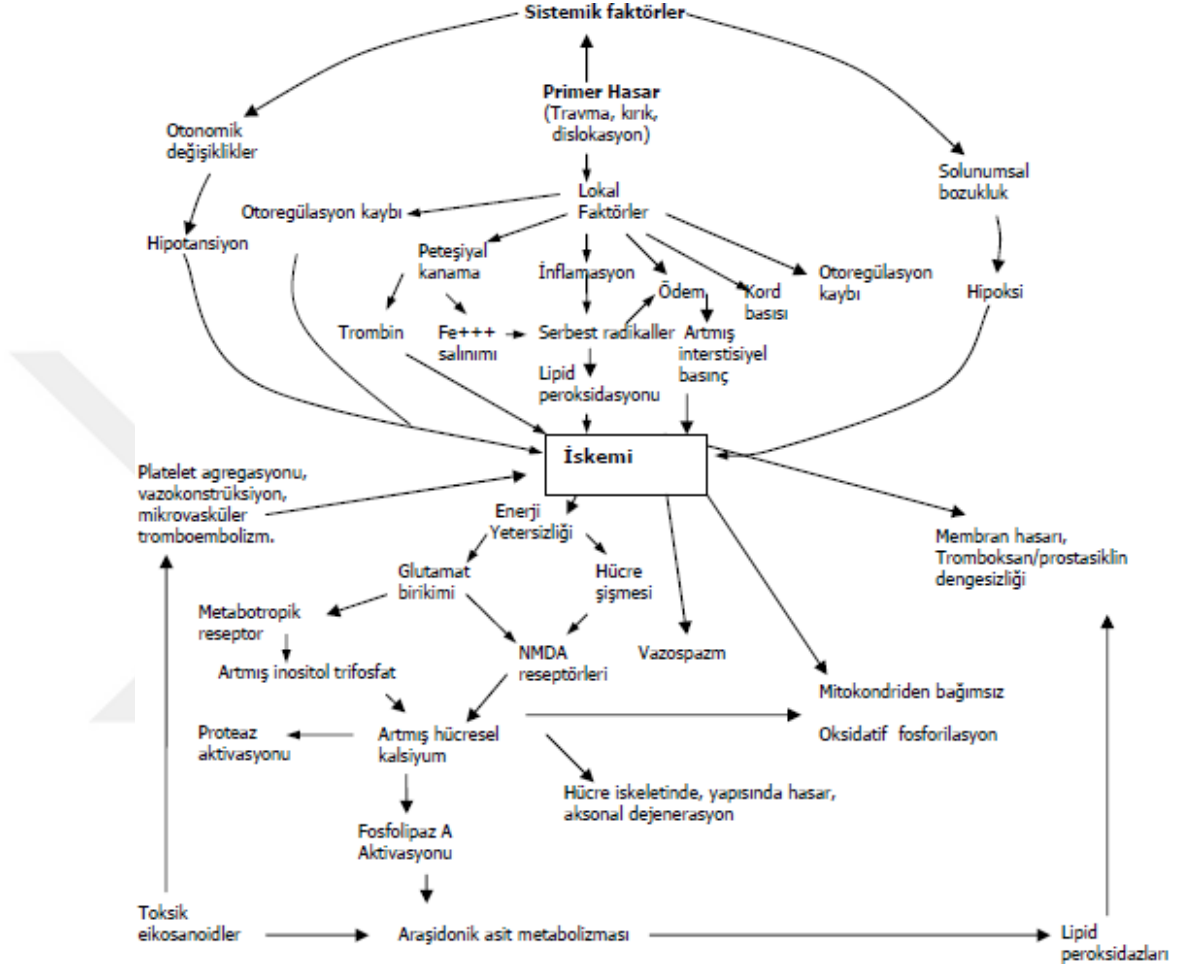
Travmatik spinal kord hasarı (TSKH), sıklıkla ciddi nörolojik patolojilere sebep olarak, her sene binlerce bireyin yaşam kalitesinin değişmesine sebep olan önemli bir sağlık problemidir (1). Hasta ve hasta yakınlarının duygusal, sosyal ve finansal olarak büyük kayıplar yaşamasına sebebiyet veren spinal kord hasarında, patolojik sürecin anlaşılmasında halen sınırlı hücrel ve moleküler bilgiye sahibiz.

2018'de TSKH için yayınlanan insidans oranları, ABD'de bir milyon insan için yaklaşık 54 vaka veya her yıl yaklaşık 17.700 yeni vakadır (1999'da 10.000) (2). Ülkemizde yılda ortalama 1600-2000 civarı travmatik omurilik yaralanması vakası gerçekleşmektedir (3).

TSKH'nın başlıca nedenleri arasında motorlu taşıt kazaları (% 38,3), düşmeler (% 31,6), şiddet (% 13,8) ve spor (% 8,2) bulunmaktadır (4). Erkek ve kadın cinsiyet arasındaki oranlar, çeşitli serilerde 1,5-4/1-1,5 gibi değerlerde olduğu görülmüştür (5). Yaralanma seviyelerine baktığımızda servikal bölgedeki yaralanmaların en sık görüldüğü servikal bölgedeki yaralanmaların %36,8'inin C4-6 seviyelerinde olduğu görülmüştür. Bunu torakal ve lomber bölgelerdeki yaralanmalar izlemektedir. Hasarlanan seviye ne kadar yukarıda olursa klinik bulguların da daha ağır olduğu gözlenmiştir (6).

TSKH temel olarak 2 fazdan oluşur; primer hasar mekanizması (başlangıçtaki mekanik hasar) ve sekonder hasar mekanizması (vasküler, biyokimyasal değişiklikler). Primer hasarda; yaralanma sırasında, etkilenen bölgede akson ve nöronların mekanik olarak parçalanması görülür ve buna bağlı olarak omurilik için gerekli olan kan akımı azalır. Birincil hasara neden olan yaralanmalar arasında; yırtılma veya kesilme, patlama kırıkları, dislokasyon fraktürleri, yabancı cisim yaralanmaları veya ateşli silah yaralanmaları sayılabilir. Beklenmedik nedenlere bağlı olduğu için genellikle engellenemez ve şiddeti değiştirilemez (7,8,9,10). Sekonder hasar; elektrolit değişiklikleri, serbest radikal formasyonu, vasküler iskemi, ödem, posttravmatik vasküler reaksiyon, apoptozis gibi vasküler ve biyokimyasal değişiklikleri kapsamaktadır (11). Sekonder hasarın gelişmesinde, mikrogial

aktivasyonun major rol oynadığını ve TSKH sonrası doku hasarını ve morfolojik/fonksiyonel iyileşmeyi baskıladığını destekleyen yayınlar bulunmaktadır (12,13,14) (Şekil 1).



Şekil 1: Spinal kord hasarı sonrası gelişen primer ve sekonder hasarın şematik gösterilmesi.

Tarih boyunca günümüze kadar TSKH tedavisinde birçok ajan denenmiş ve araştırılmıştır. TSKY’nda etkinliği kanıtlanmış bir tedavi protokolü mevcut değildir. Sadece metilprednizolon (MP) tedavi protokolü mevcut olup, etkinliği tartışmalıdır. Metilprednizolonun tekrarlanabilir yararlı etkileri yoktur ve yan etkisi fazladır (15,16). Artık, akut spinal kord hasarı tedavisinde MP protokolü önerilmemektedir ve tedavi protokolünden de çıkarılmıştır (17).

Epidermal growth faktör reseptörü (EGFR), transmembran reseptör tirozin kinaz olup, hücresel fonksiyonları (hücre proliferasyonu, migrasyon, protein sekresyonu, differansiyasyon ve survi) düzenler (18). Santral sinir sistemi gelişiminde EGFR, nöral progenitör hücre proliferasyonu ve astrogliozisten sorumludur (19). Nörotravma sonrası lezyon bölgesinde ve astrositlerin çevresinde, EGFR ve ligandlarında hızlı artış gözlenir (20). EGFR aktivasyonu astrosit reaktivitesini tetikler ve büyüme moleküllerinin sekresyonunu düzenler. Böylelikle lezyon sahasında glial skarı artırır ve akson rejenerasyonunu inhibe eder (21). Sıçanlarda TSKH sonrası, EGFR spesifik inhibitör ile yapılan tedavide glia skar formasyonunda azalma, aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel yenilenmede artış gözlenmiştir (22). EGFR yolağını iki şekilde inhibe edebiliriz;

1-Ekstrasellüler bölgedeki EGFR'nin monoklonal antibody'ler ile inhibisyonu

2-Oral tirozin kinaz inhibitörleri ile (EGFR, tirozin kinaz aktivasyonunu sağlıyor)

Panitumumab(PAB), human IgG2 monoklonal antibody olup, epidermal growth faktör (EGF) antagonistidir ve EGFR'ye direkt etkilidir (23). EGFR'ye spesifik olarak bağlanır ve EGFR ligandlarını yarışmalı olarak inhibe eder.

Mikroglia aktivasyonu ve oksidatif stres, TSKH sonrasında nöroinflamasyonu başlatan esas olaylardır. TSKH sonrası, serbest oksijen radikalleri ve proinflamatuvar sitokinler orantısız olarak sekrete edilirler. Hidrojen peroksit, süperoksit anyonları, IL- 1beta, IL-6, IL-12, TNF-alfa bunlardan birkaçıdır (24). Hücresel membranların lipid peroksidasyonu, proteinlerin oksidasyonu ve DNA fragmentasyonu sekonder hasara katkı sağlayan diğer hücresel hasarlardır (25,26). Reaktif oksijen türlerinin (ROS), zararlı etkileri, mitokondrial disfonksiyonda anahtar rolü oynar. Mitokondrial fonksiyonları korumak için serbest oksijen radikallerinin hasarını minimize etmek hedeflenmelidir. Organizmalarda, ROS'un zararlı etkilerine karşı koymak için antioksidan sistemler gelişmiştir. En gelişmiş antioksidan olarak glutatyon gösterilebilir. Glutatyon, kompleks bir molekül olup, sistein, glisin ve glutamattan meydana gelmektedir. Alfa-lipoik asit (LA) ve N-asetil sistein (NAC), thio derivasyonları olup, glutatyondan üretilmektedir ve antioksidan sistemin olmazsa olmaz elemanlarıdır (27,28). LA, Krebs siklusundan identifiye edilmiş bir coenzimdir

(29). Sadece metal iyonlarını şelate etmekle kalmayıp, ROS'u etkisizleştirme ve glutasyonu restore etme etkileri de vardır (30). NAC, tiol derivasyonu olup, mitokondrideki redoksan seviyesinin korunmasından sorumludur. NAC'ın nöroprotektif etkisi, antioksidan ve antienflamatuar etkilerinin birlikte gözlenmesi ile sağlanmaktadır (31). Nöral dokunun antioksidan kapasitesi mevcut olup (32), LA ve NAC gibi potansiyel maddeler, ROS'un zararlı etkilerini azaltarak nöroproteksiyon sağlamaktadır.

Bu çalışmada; Deneysel travmatik spinal kord hasarı yapılan sıçanlarda bir EGFR antagonisti olan Panitumumab'ın tek başına ve antioksidan moleküller ile kombine kullanımının, spinal kord hasarı sonrası gözlenen oksidatif stres ve histopatolojik parametreler üzerine etkilerinin araştırılması çalışılmıştır.

2. OMURİLİK TRAVMASI TARİHÇESİ

Travmatik spinal kord yaralanmaları insanlık tarihi ile paralellik gösterir. Omurilik travmaları ve yaralanmaları ile ilgili en eski yazılı kaynaklar Mısırlılar zamanına dek uzanmaktadır. 1930 yılında Breasted tarafından tercüme edilen Edwin Smith Papürüsü'nde bu konuyla ilgili bilgilere rastlanmıştır (33).

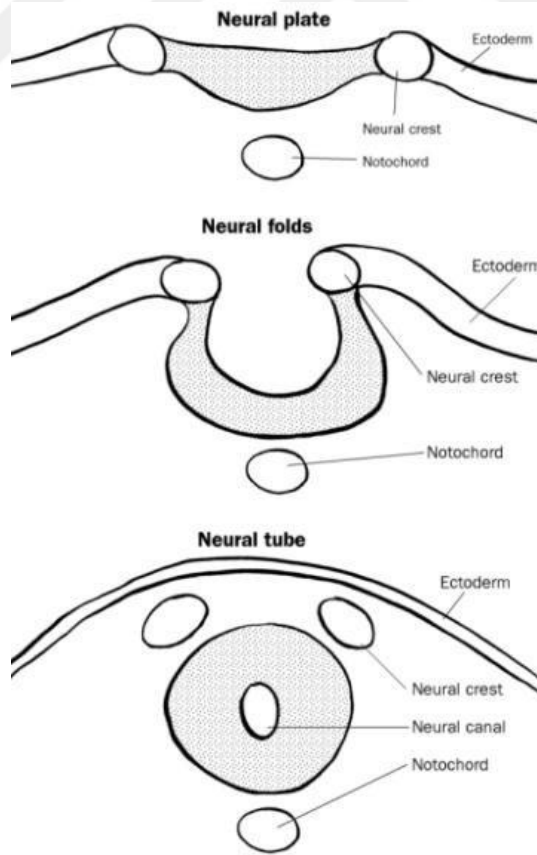
Antik Yunan Medeniyeti'nde yaşamış olan ve tıbbın babası olarak adlandırılan Hipokrat omurilik travmaları ile ilgilenmiş, klinik bulgular üzerine yaptığı tespitlerini ekstremitte paralizileri ve parapleji olarak belirtmiştir (34).

18.yüzyılda TSKH ile ilgilenen kişiler artmış ve çalışmalar çoğalmıştır. İlk fizyopatolojik çalışma 1890 yılında Schamus tarafında yayınlanmıştır. Ağırlık düşürme modeli ile yapılan bu çalışmada, tavşanların travma sonrası omurilikleri incelenmiş olup travmaya bağlı dejeneratif ve kavitasyon bulguları gözlenmiştir. 1897 yılında Lundberg, kobaylarda gerçekleştirdiği çalışmasında ise travma sonrası kord yaralanması ve kontüzyon oluşumunu ve bunun sonucunda beyaz cevher dejenerasyonunu göstermiştir (35).

Travmatik spinal kord hasarı ile ilgili bilgi birikimi, 2. Dünya Savaşının meydana gelmesiyle artmıştır. 1978 yılında Tator ve Rivlin ağırlık düşürme modelinden farklı şekilde klip kompresyon modeli tanımlamışlardır. Bu yöntem ile değişik derecede kuvvet uygulayabilen anevrizma klipleriyle değişen şiddette ve sürede travmaların oluşturulmasına imkan sağlamıştır. Bu yöntemin bir diğer avantajı klipleme süresince omuriliğin iskemiye maruz bırakılarak insanlardaki benzer travma özelliklerinin daha iyi bir şekilde gözlenmesine yarar sağlamasıdır (36).

3. OMURİLİK EMBRİYOLOJİSİ

Sinir sistemi, embriyonik dönemin 3.haftasında nöral plak oluşumu ile başlar. Ektoderm kalınlaşarak nöral plağı oluşturur. Nöral plaktan fissurlar gelişir ve nöral oluk oluşmaya başlar. Nöral oluk derinleştikçe kenarları belirginleşir, nöral katlantılar oluşur. Katlantılar birleşerek tübüler yapı oluşturulur. Nöral tübün ventrali motor hücrelere, dorsali duyuşal hücrelere dönüşür. Maturasyon ilerledikçe, nöral tüpte 3 katman oluşur; ventriküler katman, orta katman, marjinal katman. Ventriküler katmandan; ventrikül ve spinal kordaki santral kanalın iç yüzeyi, orta katmandan; merkezi sinir sistemi gri cevheri, marjinal katmandan da; merkezi sinir sistemi beyaz cevheri gelişir. Nöral tübün kapanması (nörolasyon) ile gelişmekte olan sinir sistemi, yüzeyel ektodermden ayrılır. Nörolasyon, nöral tübün ortasından başlar, anterior ve posterior nöroporlara doğru ilerler. Anterior (sefalik) ve posterior (kaudal) porlar en son kapanır. Nörolasyon 4. Haftada tamamlanır ve merkezi sinir sistemi uzun sıvı dolu tübüler bir yapı haline gelir (37,38,39) (Şekil 2).



Şekil 2:Nöral tüp gelişimi (University of Michigan, Anatomy Department)

4. OMURİLİK ANATOMİSİ

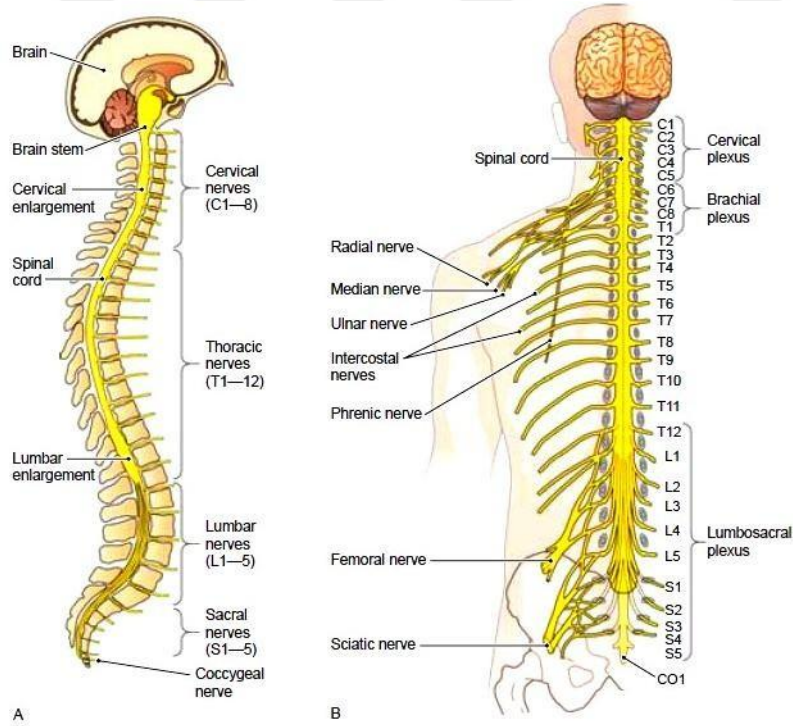
Omurilik vertebral kolon içinde yer alan ve servikalden lomber bölgeye dek uzanan bir yapıdır. Ağırlığı 30-45 gram, uzunluğu da 40-50 santimetre aralığında değişmektedir. Intrauterin hayatta kanalın tamamını kaplayan omurilik erişkin dönemde ise kanalın üst 2/3 kısmını doldurmaktadır. Yenidoğan döneminde L3 vertebra hizasında sonlanan omurilik erişkin dönemde L1 vertebra hizasında sonlanır. Kranial bölgeye doğru beyin sapı yapılarıyla eden spinal kord, kaudal yönde de konus medullaris ve kauda equina lifleriyle devam etmektedir. Filum terminale internus olarak S2 seviyesine kadar intradural olarak devam eder ve S2 seviyesinde duranın dışına çıkarak filum terminale eksternusu oluşturup koksikte sonlanır (40,41).

Omuriliği çevreleyen 3 zar mevcuttur. En dıştaki zara dura mater, ortadaki zara araknoid mater ve en içteki zara da pia mater adı verilir. Araknod ve pia mater arasında Beyin-Omurilik Sıvısı'nın yer aldığı subaraknoid aralık bulunmaktadır. Dura mater ve araknoid mater arasında subdural boşluk yer almaktadır. Omurilik subdural aralıkta ligamentum denticulatum adı verilen bağlar sayesinde dura matere bağlanır (38).

Omurgada 33 vertebra bulunmakta olup 7'si servikal, 12'si torakal, 5'i lomber 5'i sakral ve 4'ü de koksigeal vertebradır (Şekil 3). Bir çift spinal sinir ön ve arka köklerin birleşmesiyle oluşmakta olup omurilikten 31 çift spinal sinir çıkmaktadır. 1.servikal sinir ve koksigeal köklerin arka kökleri bulunmamaktadır. Spinal sinirlerin 8 çifti servikal, 12'si torakal, 5'i lomber, 5'i sakral ve 1'i de koksigeal segmentten çıkmaktadır (Şekil 4). 1.servikal çift spinal sinir, oksipital kemikteki foramen magnum ile C1 vertebra arasından çıkmaktadır. C7 ve T1 vertebraları arasından da C8 çift spinal siniri çıkmaktadır. Dolayısıyla servikal bölgedeki sinirler alt seviyedeki vertebranın seviyesi ile adlandırılmaktadır. Torakal ve lomber bölgede ise seviyeden çıkan kök bir üst vertebra seviyesi ile adlandırılmaktadır (42).



Şekil 3: Omurgayı oluşturan kemik yapılar (Sobotta; Atlas of Human Anatomy)



Şekil 4: Spinal kord ve spinal sinirler, A: Lateral bakış B: Posteriyör bakış (Netter Atlas of Human Anatomy)

Omurilik, gri ve beyaz cevher denen yapılardan oluşur. Gri cevherde hücre gövdeleri, aksonlar, nöroglial hücreler ve kan damarları bulunurken, beyaz cevherde ise myelinli sinir lifleri, nöroglial hücre ve besleyici vasküler yapılar bulunmaktadır (38). Üst ekstremitelerdeki kas gruplarına giden liflerle alt ekstremitelere giden liflerin bulunduğu seviyelerde gri cevher miktarının daha fazla olduğu görülmüştür (42). Omuriliğin ön tarafında yerleşmiş olan geniş yarığa fissura mediana anterior adı verilir. Yan taraflarında, sulcus anterolateralisler bulunmaktadır. Arkada ortada, sulcus medianus posterior ve yanlarında sulcus posterolateralisler bulunmaktadır. Ayrıca bu iki yapının arasında da sulcus intermedius posterior yer alır (41). Bu yapı T6 ve üzerindeki seviyelerde görülmekte olup fasciculus gracilis ve fasciculus cuneatusu birbirinden ayırır. Sulcus posterolateralislerden duyu kökleri medulla spinalise giriş yaparken sulcus anterolateralisten de motor kökler medulla spinalisten çıkış yapmaktadır.

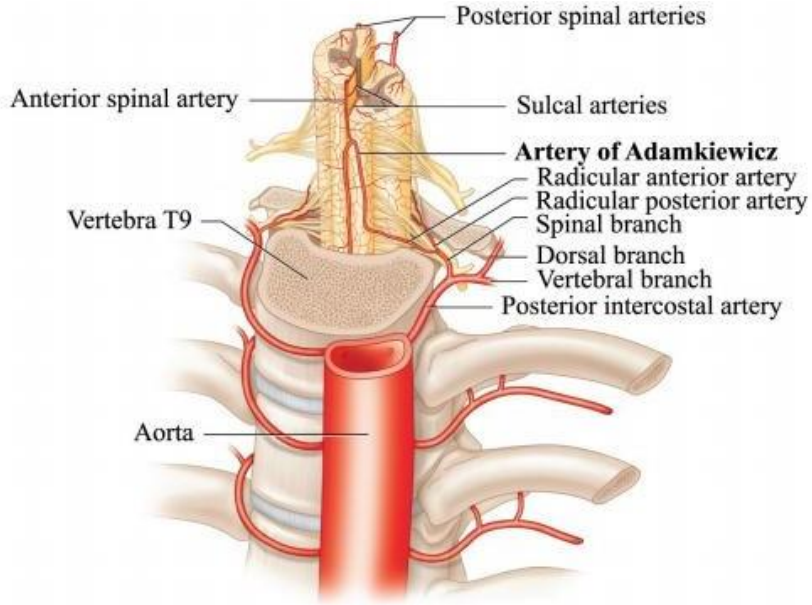
4-1.Omuriliğin Vasküler Yapısı

Omuriliğin beslenmesi Arteria Vertabralis'in dalları olan Anterior spinal arter (1 adet), Posterior spinal arter (2 adet) ve radiküler arterler sayesinde olur (43).

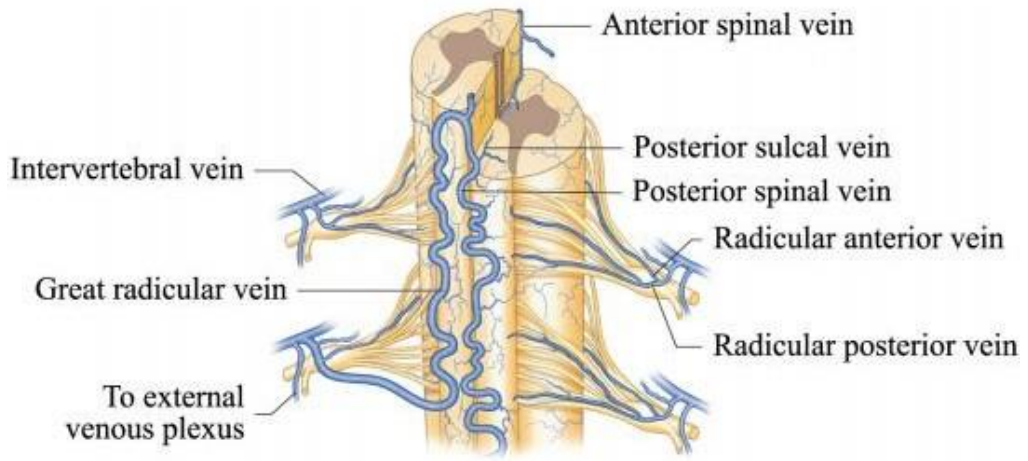
Anterior spinal arter, arteria vertebralislerden köken alarak, fissura mediana anteriorda, konus medullarise kadar inerek filum terminale ve kauda equinaya kadar uzanan liflere ayrılarak vasküler beslemeyi sağlar.

Posterior spinal arterler ise omurilik arka kısmında yer alan sulcus posterolateralisler içinde seyreder. Bu bölgeden aşağı inerken de radiküler arterlerin arka dalları ile anastamozlar oluşturur (44). Radiküler arterlerin en büyüğü orta torakal bölgenin altında lumbosakral omurilik segmentinin ön kısmını besleyen Arteria Radicularis Magna (Adamkiewicz arteri) olup T9-L2 arasında, %75-80 sol interkostal lomber arterden köken alan arterdir (Şekil 5).

Omurilik venlerinin yerleşmesi arterlere paralellik gösterir. Üst vertebral bölgenin venleri, internal jugular vene ve vena cava superiyora boşalırken, alt vertebral bölgenin boşalımı inferiyor vena kavaya olmaktadır (Şekil 6).



Şekil 5: Omurilik arteryal beslenmesi (Anatomy of spinal blood supply)



Şekil 6: Omurilik venöz drenajı (Anatomy of spinal blood supply)

5. SPİNAL KORD TRAVMASININ FİZYOPATOLOJİSİ

Travmatik spinal kord hasarının patofizyolojisi kompleks olup, henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Primer hasar ve sekonder hasar olmak üzere iki mekanizma ile oluşmaktadır (45).

5-1.Primer Hasar

Travma anında mekanik zedelenmeye bağlı olan hasardır. Mekanik etkinin şiddetine bağlı olarak; küçük hemorajik odaklardan, spinal kordun tam kat kesisine kadar geniş bir yelpaze yayılan hasar olabilir.

Primer hasarda; yaralanma sırasında, etkilenen bölgede akson ve nöronların mekanik olarak parçalanması görülür ve buna bağlı olarak omurilik için gerekli olan kan akımı azalır. Birincil hasara neden olan yaralanmalar arasında; yırtılma veya kesilme, patlama kırıkları, dislokasyon fraktürleri, yabancı cisim yaralanmaları veya ateşli silah yaralanmaları sayılabilir. Beklenmedik nedenlere bağlı olduğu için genellikle engellenemez ve şiddeti değiştirilemez (6,7,8,9).

Primer hasarda 4 farklı mekanizma görüyoruz.

Kalıcı kompresyon etkisi: En sık görülen primer hasar mekanizmasıdır. Darbe anında oluşan ve sonrasında da devam eden omurilik kompresyonudur. Patlama kırıkları sonrası kemik yapıların dura ve omurilik kompresyonuna yol açmaları, dislokasyon fraktürleri, travmatik disk rüptürleri, enfeksiyon, tümör, osteoporoz, metabolik hastalıklar gibi durumlar örnek gösterilebilir (46).

Geçici kompresyon etkisi: Öncesinde varolan dejeneratif durumlara bağlı olarak kompresyona ilaveten, darbe anında oluşan ve geçici bir süre devam eden kompresyondur. En sık dejeneratif servikal omurga hastalığı olan kişilerde hiperekstensiyona bağlı olarak oluşan hasarda görülmektedir.

Distraksiyon mekanizması: Darbe anında, spinal kolonun aksiyel planda kuvvetle gerilmesidir. Mekanizmaya bağlı hem spinal kord hem de çevresinde bulunan yapılar etkilenmektedir.

Laserasyon ve Traksiyon mekanizması: Özellikle ateşli silah ve delici kesici alet yaralanmalarında görülen mekanizmadır. Travmatik cisimlerin hem spinal kord üzerinde hasar oluşturması hem de komşu dokularda meydana getirdiği hasar ile oluşur. Bu durumda hasar minör hasardan tam omurilik kopmasına kadar geniş bir pencere de gerçekleşebilir (47).

5-2.Sekonder Hasar

İlk kez 1911 yılında, Allen tarafından sekonder yaralanma konsepti ortaya atılmıştır (48,49). Sekonder hasarın gelişmesinde, mikrogliyal aktivasyonun major rol oynadığını ve TSKH sonrası doku hasarını ve morfolojik/fonksiyonel iyileşmeyi baskıladığını destekleyen yayınlar bulunmaktadır (11,12,13). Travmayı takiben ilk dakikalarda, gri cevherde mikro kanamalar ile beyaz cevherde ödem görülmeye başlar. Bu durum ilk saatlerde giderek artarak devam eder. 1.saat civarında hücresel düzeyde değişiklikler görülebilir. Bu değişiklikler sitoplazmada eozinofili, hayalet formu kazanmış hücreler, nöronlarda küçülme, çekirdekte hiperkromatizasyon şeklinde görülmektedir. Takiben gri cevherdeki artan kanamalar, posttravmatik 8.saat civarında beyaz cevhere de yayılarak öncelikle ön boynuz hücrelerini etkilemeye başlar. Bu durum posttravmatik 8-24.saatlerde ışık mikroskopu ile saptanabilir (11). Posttravmatik 3.gün civarı akut enflamasyon bulguları maksimuma çıktığı belirtilmiştir. Takibinde posttravmatik 6.gün civarında da nekrozun ileri derecede ilerleyerek otodekstrüksiyon denilen olayın gerçekleştiği görülür. Takibinde hemorajik bölgede başlayan kavitasyon, enfarkt gelişimine yol açarak posttravmatik enfarkt denilen durumu meydana getirir (50). Sekonder hasar mekanizmasının etkilerini engellemeye yönelik farmakoterapik çalışmalar yoğun olarak devam etmektedir. Oluşan nöronal hasarın etkilerinin en aza indirilmesi hedeflenmektedir.

Sekonder yaralanmadaki fizyopatolojik değişiklikler; sistemik vasküler mekanizmalar, lokal vasküler hasar, biyokimyasal değişiklikler, elektrolit bozuklukları, ödem, enerji metabolizmasının bozulması ve apoptoz ile oluşmaktadır.

5-2-1.Sistemik Vasküler Mekanizmalar

Travmatik omurilik yaralanmalarında multisistemik etkilenme olmaktadır. Özellikle kardiyovasküler ve hemodinamik değişiklikler ön planda olabilir. Bu etkiler nörojenik şok ve solunum yetmezliği olarak görülebilir. Nörojenik şok; yaralanmanın şiddeti ve seviyesine bağlı olarak kardiak outputun düşmesi, periferik rezistansın azalması ve buna bağlı olarak sempatik tonusun düşmesi sonrasında gelişen hipotansiyon ve bradikardi tablosuna denmektedir. Kanlanmanın bozulması sonucunda kord yeterli olarak beslenemez ve iskemi gelişerek hasar oluşmaya başlar (51,52).

5-2-2.Lokal Vasküler Hasar

Spinal kord hasarı sonrasında oluşan iskeminin sadece travmaya bağlı vasküler zedelenmeler sonucu değil, ayrıca bazı ajanların da etki ettiği ve vazospazmı tetikleyerek iskemiye sebep olduğu düşünülmektedir (53,54). Tator ve ark. yaptıkları travma modelinde, kompresyon sonrası omurilikte hem kranial hem de kaudal kısımda kan akımının durduğunu göstermişlerdir (48). Sağlıklı spinal kordta, kan basıncı değişikliklerine karşı kan akımını sabit tutan otoregülasyon mekanizması bulunmakta olup, travma sonrası bozulması da bu hasarı derinleştirir. Kan basıncının ve akımının azalması gri cevherde daha da fazla olmak üzere beyaz cevherde de hipoperfüzyona yol açar. Buna bağlı olarak vasküler otoregülasyon mekanizmalarındaki bozukluk derinleşir, doku perfüzyonu azalır ve doku üzerine toksik etkileri olan metabolik artıklar birikmeye başlar. Hiperemi ve ödem gelişimi tetiklenir. Posttravmatik iskemi nedenlerine özetlersek; mekanik hasara ve vazoaktif maddelerin salınımına bağlı gelişen vazospazm, endotel hasarı, hücresel şişme, hemoraji, tromboz, trombosit agregasyonu ve sitotoksik özellik taşıyan maddelerin salınımını sayabiliriz (55).

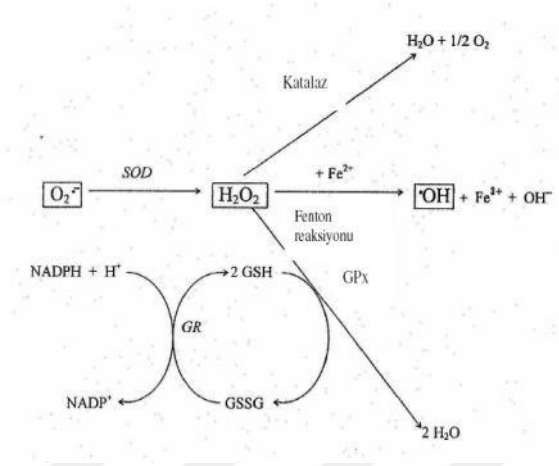
5-2-3.Biyokimyasal Değişiklikler

Elektronların birbirleriyle düzenli şekilde ilişkili olması bileşiğe kararlı bir yapı kazandırır. Dış yörüngesinde bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektrona sahip bileşik veya elementlere ‘serbest radikaller’ adı verilir. Serbest radikaller etkilerini hücresel yaşam için büyük önem taşıyan DNA, protein ve yağlara karşı gösterirler. Bu radikaller metabolizmanın normal yan ürünü olarak üretilebilmekle beraber çevresel faktörlerin etkisi ile de oluşabilmektedir. Hücrede elektron transfer zincirinin yetersiz olması sonucunda SOR molekülleri oluşmaktadır. Bu moleküller normalde süperoksit dismutaz ile hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşür. Hidrojen peroksit de katalaz enzimi yardımıyla su (H_2O) ve oksijene (O_2) çevrilir. Böylece bu moleküllerin toksik etkilerinden korunulmuş olunur. Fakat oksidatif stres artışı engellenemez ise serbest oksijen radikalleri nükleik asitlerin, proteinlerin ve lipidlerin oksidasyonuna neden olurlar (56). Daha spesifik olarak bu moleküller, mitokondrial respiratuar zincir enzimlerinin inaktivasyonu, gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenazın inaktivasyonu, Na-K ATPaz inhibisyonu ve Na membran kanallarının inaktivasyonuna yol açar. Kısaca reaktif oksijen ve nitrojen türlerinden ortaya çıkan oksidatif stresin, spinal kord hasarına katkıda bulunduğu ve diğer mediatörlerle yakından ilişkili olduğu açıktır (57). Reaktif ürünlerin oluşturduğu etki, antioksidan koruma sistemleriyle kontrol altında tutulmaya çalışılır. Antioksidan maddeler olarak; Vitamin E, Vitamin C, karotenoidler, glutatyon metabolitleri, ürik asit, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz gibi hücre koruyucu antioksidan enzimler sayılabilir (58,59).

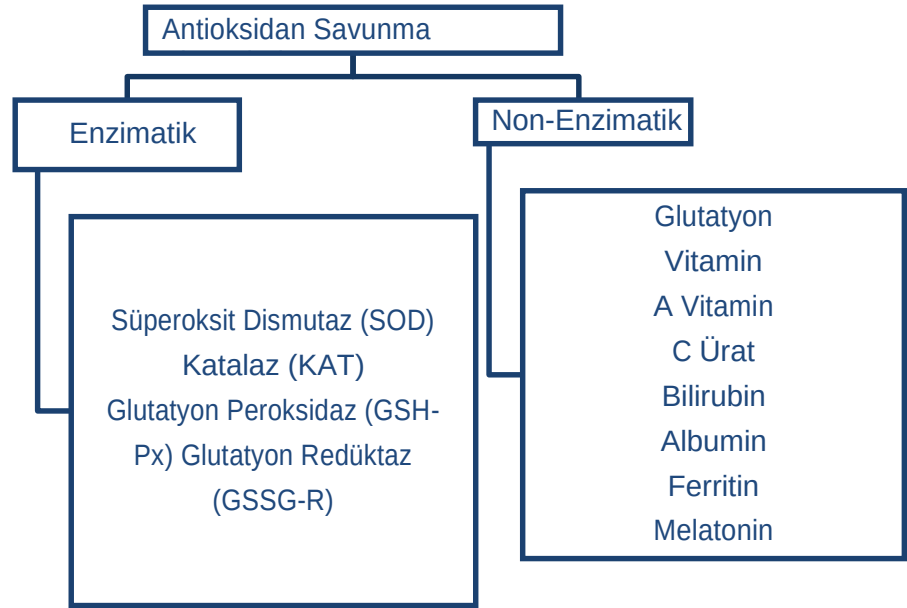
5-2-4.Antioksidan Savunma Sistemleri

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırmak için çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bu mekanizmalara ‘antioksidan savunma mekanizmaları ya da antioksidanlar’ adı verilir. Antioksidanlar; lipit peroksidasyonunu engellerler ve okside olan substratlara göre daha az konsantrasyonlarda bile substratın oksidasyonunu geciktirirler ve inaktif duruma getirirler (60). Bir antioksidanın etkisini gösterebilmesi için, o maddenin serbest radikalleri indirgeme hızı yeterli seviyede olması gerekir. Antioksidanların çoğunun

tek bir mekanizma üzerinden etkisinin çok olmadığı ve birden fazla mekanizma ile asıl etkisinin oluştuğu söylenebilir (61) (Şekil 7). Eksojen ve endojen kaynaklı olarak ikiye ayrılabilirdiği gibi fonksiyonlarına göre de radikallerin dokudaki etkilerini önleyen (E vitamini, ubikinon, retinoik asit, glutatyon, ürat) ve radikal oluşumunu önleyen (SOD, katalaz, metal şelatörler ve glutatyon peroksidaz) antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar (Şekil 8).



Şekil 7: Antioksidan savunma mekanizması (Armstrong 1998)



Şekil 8: Antioksidan savunma sistemi

5-2-4-1.Enzimatik Antioksidanlar

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px): Hücrelerde meydana gelen hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasında görevli enzimdir ve molekül ağırlığı 85000 Dalton'dur. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu yüzden hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülmektedir (62). GSH-Px, lipitleri peroksidasyondan koruyan önemli bir enzimdir. GSH-Px, redükte glutasyonu yükseltirken H_2O_2 'i de suya çevirir ve böylece membran lipitlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur.

Süperoksit dismutaz (SOD) : Süperoksit dismutaz antioksidan savunmanın ilk basamağı olan süperoksitin H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizleyen enzimdir. SOD genelde bütün canlılarda bulunmaktadır.

Katalaz (KAT): Dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Bu enzimin en önemli görevi hidrojen peroksiti, moleküler oksijen ve suya katalizlemektir. Katalaz enzimi daha çok peroksizomlarda lokalizedir ve büyük moleüllü lipit hidroperoksitlerine etki etmez. CAT, kan, mukoz membranlar, karaciğer, kemik iliği ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (63).

Glutasyon Redüktaz (GSSG-R): Glutasyon redüktaz, glutasyon S-transferaz ve glutasyon peroksidazın katalizlediği reaksiyonlar sırasında oluşan okside glutasyonu (GSSG), redükte glutatyona (GSH) dönüştüren ve antioksidan etki gösteren bir enzimdir.

5-2-4-2.Non-Enzimatik Antioksidanlar

Glutasyon (GSH): Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan düşük molekül ağırlıklı büyük bir tripeptittir. Bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalarda hücre sitozolünde bol miktarda bulunur (64).

Glutasyonun görevleri:

- 1- Bir antioksidan olarak direk serbest radikal temizleyicisi olarak,
- 2- Detoksifikasyon sırasında GSH-S transferazlar için kofaktör olarak,

- 3- Glutamini GSH'dan diğer aminoasitlere transfer eden gamaglutamil transpeptidazlar için substrat olarak kullanılır.

Hücrenin okside-redüksiyon dengesinde önemli bir rol oynanan glutatyon, hücreden toksik metabolitleri uzaklaştırır ve indirgenmiş formu sayesinde hücrelerdeki sülfhidril grubunun devamlılığını sağlar (65). Plazma, kan hücreleri, beyin, akciğer, böbrekler gibi birçok doku ve organda bulunur fakat temel kaynağı karaciğerdir.

Vitamin E: E vitamini yağda çözünen bir vitamin olup görevi lipidleri oksidatif hasardan korumaktır. En aktif formu α - tokoferoldür. Serbest radikallere karşı glutatyon peroksidaz birbirlerine tamamlayıcı etki gösterirler. Enzim, peroksidleri yok ederken, E vitamini peroksidlerin sentezini engeller (66).

Vitamin C: Suda eriyen bir vitamin olan ve sulu ortamda serbest radikallerle reaksiyon verebilme yeteneğinde olan askorbik asit, serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırmaya yardımcı olmaktadır. Redükleyici bir ajan ve radikal süpürücü olarak askorbik asit, reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu etki sağlar. Bununla birlikte serbest radikal kaynağı gibi hareket edebilme özelliğide bulunur.

5-2-5.Elektrolit Bozuklukları

Spinal kord yaralanmalarında, biyokimyasal ve sıvı-elektrolit bozuklukları önemli bir role sahiptir. Hücre içindeki Na^+ ve hücre dışındaki K^+ konsantrasyonlarında meydana gelen değişikliklerin hücresel iletiyi durdurduğu gösterilmiştir. Na^+ / K^+ dengesinin sağlıklı sağlanabilmesi için, bütünlüğü bozulmamış bir hücre membranına ve membran üzerinde sağlıklı çalışan Na^+ / K^+ ATPaz aktivitesine ihtiyaç vardır (70,71). İskemiye bağlı Na^+ / K^+ ATPaz aktivitesinde bozulma gerçekleşir. Hücre homeostazisi bozulmaya başlar; Na^+ 'un hücre için girişi ve K^+ 'un hücre dışına çıkışı artar. Na^+ beraberinde suyuda çekerek hücre şişmesi meydana gelir. Tabloya Ca^{+2} 'un hücre içine girişi ve eksitator aminoasitlerin salınımı eklenir.

Hücre hasarının mekanizmasında Ca^{+2} iyonunun rolü fazladır. Kalsiyumun hücre içi konsantrasyonunun artışı pek çok doku için hücre ölümünün son ortak noktası

olarak görülmektedir (67). Ca^{+2} artışı ile proteaz, fosfolipaz, nükleaz gibi proteolitik enzimler aktifleşerek nörotoksisiteye yol açar ve hücre hasarı başlar. Sonucunda hücre membranındaki lipitler parçalanarak araşidonik asit ve yağ asitlerini serbestleştirir. Serbestlenen moleküller siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolağı ile prostoglandin ve lökotrienlere çevrilir. Ca^{+2} aynı zamanda, mitokondrideki elektron transport zincirini bozarak serbest oksijen radikallerinin oluşmasına sebep olur ve moleküler düzeyde hücre hasarı ilerler (68,69).

5-2-6.Enflamasyon

Enflamasyon, canlı dokunun her türlü zedelenmeye karşı gösterdiği ortak bir reaksiyondur. Spinal kordun travmatik hasarı güçlü enflamatuvar yanıtı yol açar. Enflamatuvar yanıt; nötrofil (6-24saat), makrofaj (24saat-2hafta) ve T Hücreleri (periferik immün hücreler) tarafından başlatılır (72). Aktive astrositler ve mikrogial hücreler, travmayı takiben lezyonun içine göç ederler. Makrofajların aktivasyonu ve hücre immün yanıt için T hücre aktivasyonu gereklidir. Sitokinler, genelde otokrin ve parakrin özelliklere sahip olan küçük proteinler olup hücre düzenleyici proteinler olarak görev alırlar. Sitokinlerin (TNF, IL-1, IL-2, IL-6) salınımıyla, makrofajlarda ve mikrogiallarda sekonder patolojik ve enflamatuvar yanıt görülür. Sitokinler; kemokinlerin, nitrik oksidin, reaktif oksijenin ve nitrogen türevlerinin ekspresyonunu artırarak SSS enflamatuvar cevabını hızlandırır. Aktive lökositler, yara iyileşmesi için önemli olan büyüme faktörleri ve proteolitik enzimleri de salgırlar. Enflamasyonun, hem nörokonstrüktif hem de nörodestriktif işlemlere yardımcı olduğunu düşünülmektedir.

5-2-7.Apoptozis

İlk kez Kerr ve arkadaşları tarafından 1972 de tanımlanan apoptozis, biyolojik görevlerini tamamlamış yapısal elemanları ya da DNA'sı hasar görmüş hücrelerin, ilişkili olduğu doku ve hücrelere zarar vermeyecek bir biçimde ortadan kaldırılmasını sağlayan, genlerle kontrol altında tutulan ve gerçekleşmesi için enerjiye ihtiyaç duyulan programlı hücre ölümüdür. Nekrozdan farklı olarak komşu hücrelerde etkilenme görülmez.

Apoptozisi fizyolojik olarak yaşamın her döneminde görebiliriz. Patolojik apoptozis ise otoimmün ve nörodejeneratif hastalıklar, kanser, kalp hastalıkları ve viral enfeksiyonlar gibi birçok hastalığın patogenezi ile yakından ilişkilidir. Apoptozis emri alan bir hücrede kromatin yoğunlaşması görülür ve hücrenin boyutları küçülmeye başlar. Daha sonra apoptotik cisimciklere ayrılırlar. Bu apoptotik cisimcikler yüzeylerinde yeni reseptörlerle birlikte, yakındaki fagositik sistem hücrelerini çağırarak fagositoz ile uzaklaştırılır (73, 74).

5-3.Spinal Kord Travmasında Medikal Tedavisi

Farmakolojik tedavi basamağı primer hasardan ziyade sekonder hasarın gelişmesini önlemeye yönelik adımları içermektedir. Spinal kord yaralanmalarını kabaca 3 gruba; akut, iyileşme ve kronik dönemi olmak üzere ayırabiliriz. Akut dönmedeki tedaviler nöroprotektif ilaçları içermekte olup, dört gruba ayırabiliriz (75):

- Antioksidanlar,
- Nörotransmitter reseptör blokerleri,
- Fosfokinaz stimulatorleri,
- Fosfataz inhibitörleri.

İyileşme fazı ilaçları, fonksiyonel geri dönüşümün kapsam ve hızını artırır. Aksonların remiyelinizasyonunun ve denerve dokuların plastisitesinin iyileşmesine katkıda bulunur. İyileşme fazı ilaçları, hücre onarımı ve büyümesinde anahtar rol oynayan inflamatuvar faktörleri içerir. Kronik tedaviler, rejenerasyon ve remiyelinizasyon yoluyla fonksiyonların restorasyonunu sağlar.

Metilprednizolon: Kortikosteroid maddeler, spinal kord hasarı tedavisinde uzun zamandan beri kullanılmaktadır. En sık kullanılan ajan metilprednizolon (MP) olmakla birlikte, deksametazon ve hidrokortizon kullanımı da mevcuttur. Metilprednizolon'un lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, doku kan akımı ve aerobik enerji metabolizmasını düzenlemesi, posttravmatik iskemiden koruması, hücre içi Ca^{2+} birikimini engellemesi, prostoglandin $F2\alpha$ ve Tromboksan $A2$ oluşmasını

engellemesi, spinal nöronlardaki eksitabilitiyi azaltması etki mekanizmaları arasında sayılabilir (76).

NASCIS (The National Acute Spinal Cord Injury Study) çalışması metilprednizolon ile ilgili bir referans çalışması olup, çalışma sonucunda MP'un ilk 8 saate uygulanması sonucunda nörolojik düzelmeyi belirgin oranda sağladığı gösterilmiştir. 1998 yılında tamamlanan NASCIS-3 çalışmasında da MP'un 24 ve 48 saatlik uygulanması değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, yaralanmanın ilk 3 saatinde MP tedavisi alan hastaların 24 saat süre ile tedavi almaları, 3-8 saat aralığında gelen hastaların ise 48 saat boyunca MP tedavisi alması gerektiği bildirilmiştir. Yapılan analizlerde travma sonrası ilk 8 saatte MP kullanımının etkinliği görülmüştür (77, 78). Ancak, son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, MP'un yüksek komplikasyon riski ve etkinliğini kanıtlayan yeterli kanıt olmadığından ötürü, akut spinal kord hasarı olgularında kullanılmaması gerektiği önerilmektedir (79,80,81,82) ve The Handbook of Neurosurgery 8th Edition by Mark S. Greenberg kitabından metilprednizolon tedavisi çıkarılmıştır.

Opiat Antagonistleri: Opiat reseptörlerini bloke ederek ikincil hasara karşı etki gösterir. Naloksan, Tirotropin salınma hormonu (TRH) ve TRH analogu YM-14673 gibi opiat reseptör blokerleri yaralanma sonrası endorfin salınmasını nötralize ederek omurilik kan akımını artırmaktadır (83).

Kalsiyum Kanal Blokerleri: Spinal kord hasarı sonrası hücre içinde Ca^{2+} artışı olmasına bağlı olarak, kalsiyum kanal blokerlerinin kalsiyumun hücre içine girişini engelleyerek omurilik yaralanmasında nöroprotektif etkili olabileceği düşünülmüştür. Ancak doku hasarını azaltmada veya nörolojik fonksiyonların düzelmesinde belirgin etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Yaralanmadan sonra en geç 1 saat içinde verilmesi gerekmektedir. Bu süreden sonra olumlu etkisi olmadığı belirtilmiştir (84).

Larazoidler (Trilazad Mesylat): 21-aminosteroiddir. Steroid olmasına rağmen steroidlerin yan etkilerini taşımaz. Antioksidan etkisi metilprednisolon'dan fazladır. Lipid peroksidasyonunu inhibisyonu sağlar, membranı stabilize eder ve omurilik kan akımını artırır (85).

Serbest Radikal Tutucuları: Spinal kord hasarı sonrası oluşan serbest radikalleri antioksidanlar nötralize ederler. E vitamini serbest radikalleri redükte eder, hücre membranına girerek poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonunu engeller. Selenyum, hidrojen peroksidi redükleyen glutatyon peroksidazın kofaktörüdür. Hücre içindeki hidrojen peroksidi ve diğer bazı peroksidleri temizler (86).

Antiinflamatuvar Ajanlar: Spinal kord hasarında, indometazin, glukokortikoid, siklooksijenaz inhibitörleri ve lipooksijenaz inhibitörleri gibi anti inflamatuvar ajanlar eikosanoid serbestleşmesini azaltıp arasıdonik asit metabolizmasını bozarak etki gösterirler ancak nöroprotektif etki gösterecek dozlarının toksik olduğu belirtilmiştir (87).

Gangliozid (GM-I): Asidik glikolipidler olup hücre membran dış lipid tabakasındaki ana maddedir. Eksojen gangliosidler lipid tabakasına yerleşip endojen gangliosid gibi davranırlar. Dokudaki hücre rejenerasyonunu (aksonal büyümeyi) arttırırlar. Eksitator aminoasitlerin nörotoksisitesini azaltırlar. Deneysel çalışmalarda nöroprotektif ve nöronal fonksiyon restorasyonunda potansiyel etkileri bulunmuştur (88).

Hiperbarik Oksijen: Vazokonstruksiyonu azaltarak vazojenik ödemi azalttığı ve kanamanın yayılımını durdurduğu bildirilmiştir. Omurilik yaralanmasının erken döneminde (ilk 6 saat) uygulandığında iskemiye önleyerek akson ve miyelin hasarını azaltarak nöronal rejenerasyonu sağladığı ve Omurilik Yaralanmalarının Medikal Tedavisi nörolojik iyileşme üzerine etkili olduğu yayınlanmıştır (89,90).

6. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulunun 2018-05/16 sayılı toplantısında yerel etik kurulu onayı (EK 1) ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2018/093 proje numaralı destek alındıktan sonra, Şubat 2018–Mart 2018 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya ve Klinik Patoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Kullanılan denekler Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezi’nden elde edilmiştir ve Avrupa Konseyi’nin önerdiği standartlara (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes) (ETS 123) uyulmuştur.

Çalışmamızda toplam 46 adet, ortalama ağırlıkları 240-310 gr arası değişen 10-12 haftalık Sprague-Dawley türü erkek cinsiyet erişkin sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar ortama adaptasyonları için 1 hafta öncesinden kafeslerine yerleştirildi. 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlıkta, yaklaşık % 55 nemli ortamda, 20-22 °C’ de musluk suyu ve standart rat yemi ile beslenmeleri sağlandı. Denekler rastlantısal olarak her biri 8 adet hayvan içeren 6 gruba ayrılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1: Deney gruplarının şematik gösterimi

Kontrol Grubu	6
Sham Grubu	8
Panitumumab Grubu (PAB)	8
Panitumumab+Alfa Lipoik Asit Grubu (PAB+LA)	8
Panitumumab+N-Asetil Sistein Grubu (PAB+NAC)	8
Panitumumab+Alfa Lipoik Asit+N-Asetil sistein Grubu (PAB+LA+NAC)	8

Kontrol Grubu: Bu gruptaki 6 deneğe herhangi bir cerrahi işlem yapılmadı ve medikal tedavi verilmedi. Sakrifikasyon öncesi intra venöz kan alımı (0,2cc) gerçekleştirildi.

Sham Grubu: Bu gruptaki 8 deneğe laminektomi ve anevrizma klibi ile spinal kord hasarı uygulamasını takiben; 5 gün boyunca günde tek doz %0.9 NaCl 2ml/kg intraperitoneal olarak uygulandı. Takibinde, 10.dakika, 24.saat ve 5.gün intravenöz kan alımı (her seferinde 0,2cc) gerçekleştirildi.

Panitumumab Grubu: Bu gruptaki 8 deneğe laminektomive anevrizma klibi ile spinal kord hasarı uygulamasını takiben;tek doz Panitumumab 6mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı. Takibinde, 10.dakika, 24.saat ve 5.gün intravenöz kan alımı (her seferinde 0,2cc) gerçekleştirildi.

Panitumumab+Alfa Lipoik Asit Grubu: Bu gruptaki 8 deneğe laminektomive anevrizma klibi ile spinal kord hasarı uygulamasını takiben; tek doz Panitumumab 6mg/kg intraperitoneal ve 5 gün boyunca günde 2 kez Alfa Lipoik Asit 50mg/kg

intraperitoneal olarak uygulandı. Takibinde, 10.dakika, 24.saat ve 5.gün intravenöz kan alımı (her seferinde 0,2cc) gerçekleştirildi.

Panitumumab+N-Asetil Sistein Grubu: Bu gruptaki 8 deneğe laminektomive anevrizma klibi ile spinal kord hasarı uygulamasını takiben; tek doz Panitumumab 6mg/kg intraperitoneal ve 5 gün boyunca günde 2 kez N-Asetil Sistein 100mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı. Takibinde, 10.dakika, 24.saat ve 5.gün intravenöz kan alımı (her seferinde 0,2cc) gerçekleştirildi.

Panitumumab+Alfa Lipoik Asit+N-Asetil Sistein Grubu: Bu gruptaki 8 deneğe laminektomive anevrizma klibi ile spinal kord hasarı uygulamasını takiben; tek doz Panitumumab 6mg/kg intraperitoneal, 5 gün boyunca günde 2 kez Alfa Lipoik Asit 50mg/kg intraperitoneal ve 5 gün boyunca günde 2 kez N-Asetil Sistein 100mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı. Takibinde, 10.dakika, 24.saat ve 5.gün intravenöz kan alımı (her seferinde 0,2cc) gerçekleştirildi.

6-1.Anestezi Tekniği

Tüm gruplardaki sıçanlara intraperitoneal (5-10mg/kg) xylazin hidroklorür (RompunR, Bayer, İstanbul) ve (50-60mg/kg) ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul) ile genel anestezi sağlandı.

6-2.Cerrahi Teknik ve Omurilik Travması

Kontrol grubuna herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı. Diğer gruptaki hayvanlara anestezi ajanları verilip sedasyonun sağlandıktan sonra ratlar sırt bölgesi tıraş edilerek ameliyat masasına prone pozisyonunda yerleştirildi. Cerrahi işlem sırasında aseptisi ve antisepsi kurallarına uyuldu. Profilaktik olarak 100 mg/kg Cefamezin (İespor İ.E. ULAGAY İlaç Sanayii TÜRK A.Ş./İstanbul) intraperitoneal olarak uygulandı. Polivinil pirolidon iyod (Polyod %10 solusyon, Drogas, Ankara) ile yapılan lokal antisepsiden sonra, T9-12 vertebralar hizasından cilt ve cilt altı insizyonu yapılarak paravertebral adaleler bilateral subperiosteal olarak sıyrıldı. T9-10-11 laminektomiyi ve flavektomiyi takiben dura ortaya konuldu. Dura ortaya konulduktan sonra cerrahi alanın tam ortasında yer alan dural keseye 1 dakika boyunca 25 gram

basınç uygulayan Yaşargil Anevrizma Klibi ile dura ve omurilik kompresyonu yapılarak dura ve spinal kord hasarı oluşturuldu. Travma oluşturulduktan sonra katlar 3/0 keskin ipek ile anatomiye uygun kapatıldı ve steril gazlı bez ile pansumanları yapıldı. Kontrol grubundaki denekler haricindeki bütün gruptaki deneklere bu yöntemle spinal kord hasarı oluşturuldu. Takibinde tedavi grubundaki deney hayvanlarına, denek gruplarına uygun ilaç uygulamaları yapıldı ve biyokimyasal parametreler için 10.dakikada ve 24.saatte intravenöz kan alımları (0,2cc) gerçekleştirildi. Sarı kapaklı kuru tüplere alınan her kan örneği, Total Antioksidan aktivitesi (TAS) ve Glutasyon Peroksidaz aktivitesi (GPX-1) çalışılmak üzere, 3000 devirde, 20 dakika santrifuje edildi. Elde edilen serumlar eppendorf tüplere alınarak, Elisa'da çalışılana dek, -80 derecede muhafaza edildi. Denekler uygun ortamda bakımlarına devam edilmek üzere kafeslerine yerleştirildi. Deneklerin günlük bakımları ve pansumanları eksiksiz olarak yapıldı.

5 günlük medikal tedavi ve bekleme süresinin tamamlanmasından sonra, sakrifikasyon öncesi anestezi işlemi uygulanarak deneklerden 120.saat venöz kan alımları (0,2cc) yapıldı. Ardından denekler sakrifiye edildi. Sakrifikasyonu takiben steril olarak operasyon sahaları açılarak lezyon sahası ortaya konuldu. Proksimal ve distalinden 5 mm'lik sağlam omurilik ve dura dokusunu da içerecek şekilde spinal kord, dura ve çevre dokular birlikte eksize edildi.

6-3.Patolojik İnceleme

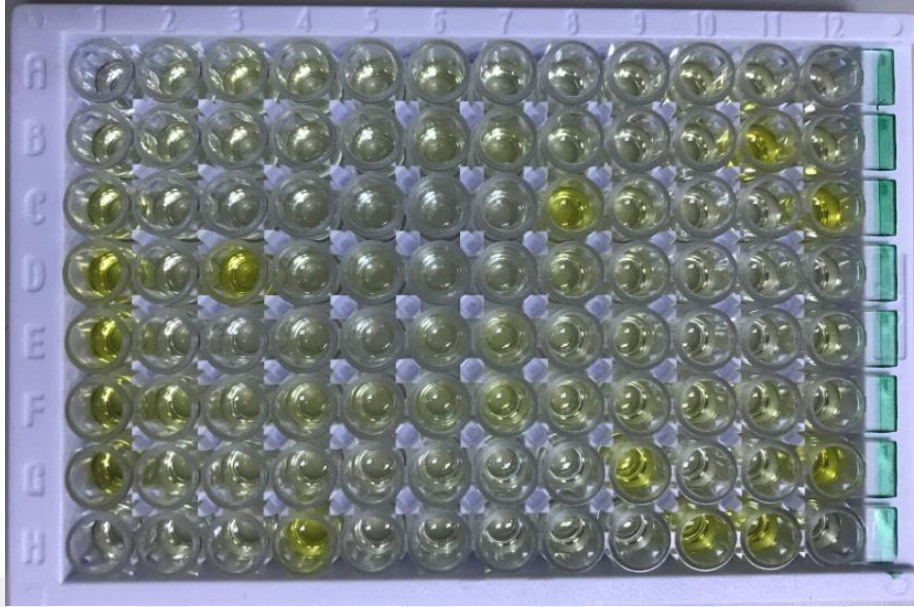
Patolojik inceleme için alınan örnekler %10 Formalin içinde Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Kliniği'ne transfer edildi. Spinal yaralanma bölgesi ortada olacak şekilde 3 cm'lik bir spinal kord kesiti çıkarılarak %10'luk formalin solüsyonu içerisinde 24 saat süre ile fikse edildi. Yaralanma bölgesi ortada olacak şekilde 2 mm kaudal, 4 mm rostral alan içeren kesitler alınarak doku takip işlemi yapıldı. Parafin bloklara gömülen bu dokulardan mikrotom ile 3 mikronluk transvers seri kesitler alındı. Lezyon alanları, kavitasyon ve kollajen doku değerlendirmesi; hematoksilin eozin (H-E) boyası ile pembe mor boyandı. Patoloji preparatları ödem, nekroz, enflamatuvar hücre durumu ve kanama bulguları ve ilgili

ajanların spinal kord hasarı üzerine olan koruyucu etkileri incelendi. Ödem, enflamatuar hücre durumu ve kanama parametreleri mevcut (Pozitif:P) ve mevcut değil (Negatif:N) olarak değerlendirildi. Nekroz alanları ise, mevcut nekrozun yüzdelik değeri üzerinden değerlendirildi.

6-4.Biyokimyasal İnceleme

Örneklerden GPX-1 ve TAS Çalışılması: Örneklerin serum GPX-1 ve TAS düzeyleri YH Biosearch (Shangai Yehua Biological Technology Co. Ltd., Shangai, China) tarafından üretilen kitler ile sandwich-ELISA yöntemi kullanılarak analiz edildi.

Farklı konsantrasyonlardaki standartlar ve örnekler daha önce belirlenmiş ve monoklonal antikor (anti-GPX-1 antikor, anti-TAS antikor) kaplanmış kuyucuklara uygun hacimlerde aplike edildikten sonra sadece örnek kuyucuklarına GPX-1 ve TAS'a özgü biyotinlenmiş saptama antikorunu aplike edildi. Sonra kör kuyucu hariç tüm kuyucuklara uygun hacimde Streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatı uygulandı. Ardından plaka 37 °C'de 60 dakika inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama yapıldı. Sonra her kuyucuğa kromojen A ve B solüsyonları eklenip 37 °C'de yaklaşık 10 dakika inkübe edildi. Bu işlemler sonucunda GPX-1 ve TAS içeren kuyucuklar mavi renk aldıktan sonra her kuyucuğa asit solüsyonu (stop solution) eklendi. Asit solüsyonu ilavesiyle birlikte mavi renkli kuyucuklarda reaksiyon sonlandırıldığı için sarı renk oluştu (Şekil 9). Son olarak her bir kuyucuğun optik dansitesi 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucu ile okundu. ELISA kitinde sunulan standartlardan elde edilen kalibrasyon grafiği (standart grafiği) çizilerek kalibrasyon formülü hesaplandı. Bu formül kullanılarak rat örneklerinden elde edilen absorbans verilerinden sonuçlar hesaplandı. Temin edilen ELISA kitlerinin performans verileri Tablo 2'de sunulmuştur.



Şekil 9: Biyokimya kitinin reaksiyon sonrası görünümü

Tablo 2: GPX-1ve TAS ELISA kitleri performans verileri

Analit	Ölçüm aralığı	Sensitivite	Intraassay % CV	Interassay % CV
GPX-1 (ng/mL)	1-300 ng/mL	0.51 ng/mL	< % 10	< % 12
TAS (pg/mL)	0.3-90 pg/mL	0.15 pg/mL	< % 10	< % 12

CV: Varyasyon Katsayısı, GPX-1: Glutatyon peroksidaz-1, TAS: Total antioksidan durum)

6-5.İstatistiksel İncelemeler

İstatistiksel analizler için NCSS (NumberCruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, oran, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk testi ve grafiksel değerlendirmeler ile sınanmıştır. Normal dağılım göstermeyen verilerin iki grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen üç ve üzeri grupların karşılaştırmalarında ise Kruskal Wallis test ve ikili karşılaştırmalarında Dunn-Bonferroni test kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında ise Fisher-Freeman-Halton Exact testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin takiplerinin değerlendirilmesinde Friedman test ve ikili karşılaştırmaların değerlendirilmesinde Dunn- Bonferroni test kullanıldı. Anlamlılık en az $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

7. BULGULAR

Çalışma Şubat 2019 ve Mart 2019 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya ve Klinik Patoloji Laboratuvarlarında 46 sıçan ile yapılmıştır. Kontrol grubunda 6, SHAM, PAB, PAB+LA, PAB+NAC, PAB+LA+NAC gruplarında 8'er sıçan çalışmaya dahil edilmiştir.

7-2.BiyokimyasalBulgular

TAS Ölçümlerine İlişkin Değerlendirmeler

Tablo 3: Gruplarda 10.dakika TAS Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

		10. dakika TAS ölçümleri	İkili karşılaştırmalar; ^a p
¹ KONTROL	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,27-2,52 (2,34) 2,37±0,11	
² SHAM	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,29-2,45 (2,32) 2,34±0,06	<i>p</i> ₁₋₂ : 0,897
³ PAB	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,42-2,69 (2,57) 2,56±0,12	<i>p</i> ₁₋₃ : 0,028*
⁴ PAB+LA	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,72-2,94 (2,83) 2,84±0,07	<i>p</i> ₁₋₄ : 0,002**
⁵ PAB+NAC	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,64-2,79 (2,7) 2,71±0,06	<i>p</i> ₁₋₅ : 0,002**
⁶ PAB+LA+NAC	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,76-2,93 (2,89) 2,87±0,06	<i>p</i> ₁₋₆ : 0,002**
^a MannWhitneyUTest		** <i>p</i> <0.01	* <i>p</i> <0.05

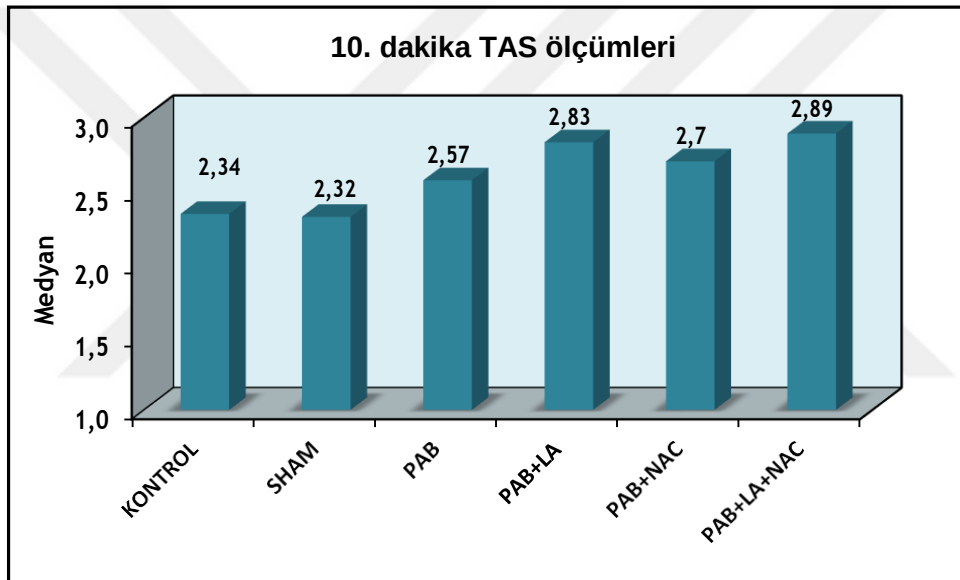
Kontrol grubu ile SHAM grubunun TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (*p*>0.05).

Kontrol grubu ile PAB grubunun TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (*p*=0.028; *p*<0.05); PAB grubunun TAS ölçümleri, kontrol grubundan daha yüksektir.

Kontrol grubu ile PAB+LA grubunun TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.002$ $p<0.01$); PAB+LA grubunun TAS ölçümleri, kontrol grubundan daha yüksektir.

Kontrol grubu ile PAB+NAC grubunun TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.002$ $p<0.01$); PAB+NAC grubunun TAS ölçümleri, kontrol grubundan daha yüksektir.

Kontrol grubu ile PAB+LA+NAC grubunun TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.002$ $p<0.01$); PAB+LA+NAC grubunun TAS ölçümleri, kontrol grubundan daha yüksektir.



Şekil 10: 10.dakika TAS ölçümleri dağılımı

Tablo 4:Takiplerdeki TAS Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

		TAS ölçümleri			^d p	^c p
		10.dakik	24.saat	5.gün		
		a				
¹ SHAM	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,29- 2,45 (2,32) 2,34±0,0 6	2,21- 2,33 (2,22) 2,24±0,0 4	2,42- 2,57 (2,53) 2,51±0,0 6	0,001*	10.dk=24.saat p:0,401 10.dk=5.gün p:0,073 24.saat<5.günp:0,001**
² PAB	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,42- 2,69 (2,57) 2,56±0,1 2	2,14- 2,53 (2,43) 2,40±0,1 4	2,81-3,1 (2,92) 2,95±0,1 1	0,001*	10.dk=24.saat p:0,137 10.dk=5.gün p:0,137 24.saat<5.günp:0,001**
³ PAB+LA	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,72- 2,94 (2,83) 2,84±0,0 7	2,77- 3,49 (3,05) 3,09±0,2 2	3,54- 3,74 (3,66) 3,66±0,0 6	0,001*	10.dk=24.saat p:0,137 10.dk<5.gün p:0,001** 24.saat=5.günp:0,137
⁴ PAB+NAC	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,64- 2,79 (2,7) 2,71±0,0 6	2,73- 2,98 (2,92) 2,89±0,0 9	3,28- 3,55 (3,47) 3,43±0,0 9	0,001*	10.dk=24.saat p:0,137 10.dk<5.gün p:0,001** 24.saat=5.günp:0,137
⁵ PAB+LA+NAC	Min-Mak (Medyan) Ort±Ss	2,76- 2,93 (2,89) 2,87±0,0 6	3,15- 3,54 (3,32) 3,33±0,1 2	3,73- 3,95 (3,88) 3,87±0,0 7	0,001*	10.dk=24.saat p:0,137 10.dk<5.gün p:0,001** 24.saat=5.günp:0,137
		^b p	0,001**	0,001**	0,001**	
<i>İkili karşılaştırmalar; ^cp</i>	<i>p₁₋₂</i>	1,000	1,000	1,000		
	<i>p₁₋₃</i>	0,001**	0,002**	0,001**		
	<i>p₁₋₄</i>	0,097	0,071	0,087		
	<i>p₁₋₅</i>	0,001**	0,001**	0,001**		
	<i>p₂₋₃</i>	0,032*	0,060	0,093		
	<i>p₂₋₄</i>	1,000	0,988	1,000		
	<i>p₂₋₅</i>	0,009**	0,001**	0,001**		
	<i>p₃₋₄</i>	0,570	1,000	1,000		
	<i>p₃₋₅</i>	1,000	1,000	1,000		
	<i>p₄₋₅</i>	0,234	0,381	0,106		

^bKruskal Wallis Test^cDunnBonferroni Test^dFriedman Test

*p<0.05

**p<0.01

10.dakika ölçümlerinin değerlendirilmesi

Gruplarda 10.dakika TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Farklılığı yaratan grubu belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; SHAM grubunun 10.dakika TAS ölçümleri, PAB+LA ve PAB+LA+NAC gruplarından daha düşüktür (sırasıyla $p=0.001$; $p=0.001$; $p<0.01$). PAB grubunun 10.dakika TAS ölçümleri de, PAB+LA ve PAB+LA+NAC gruplarından daha düşüktür (sırasıyla $p=0.032$; $p=0.009$; $p<0.05$). Diğer grupların 10.dakika TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

24.saat ölçümlerinin değerlendirilmesi

Gruplara 24.saat TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Farklılığı yaratan grubu belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; SHAM grubunun 24.saat TAS ölçümleri, PAB+LA ve PAB+LA+NAC gruplarından daha düşüktür (sırasıyla $p=0.002$; $p=0.001$; $p<0.01$). PAB grubunun 24.saat TAS ölçümleri de, PAB+LA+NAC grubundan daha düşüktür ($p=0.001$; $p<0.01$). Diğer grupların 24.saat TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

5.gün ölçümlerinin değerlendirilmesi

Gruplara 5.gün TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Farklılığı yaratan grubu belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; SHAM grubunun 5.gün TAS ölçümleri, PAB+LA ve PAB+LA+NAC gruplarından daha düşüktür (sırasıyla $p=0.001$; $p=0.001$; $p<0.01$). PAB grubunun 5.gün TAS ölçümleri de, PAB+LA+NAC grubundan daha düşüktür ($p=0.001$; $p<0.01$). Diğer grupların 5.gün TAS ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

SHAM grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

SHAM grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün TAS ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 5.gün TAS ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 24.saate göre 5.gün TAS ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).

PAB grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

PAB grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün TAS ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 5.gün TAS ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 24.saate göre 5.gün TAS ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).

PAB+LA grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

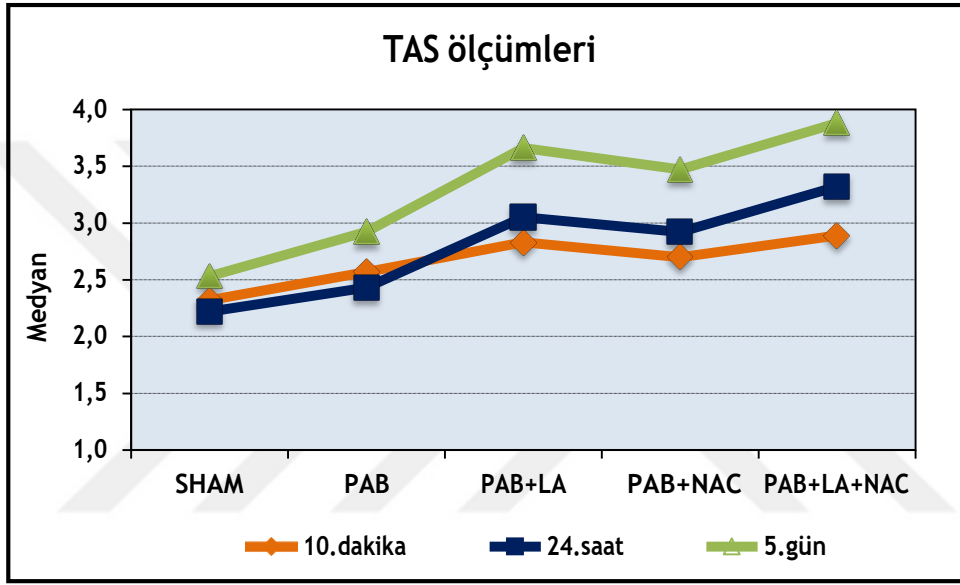
PAB+LA grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün TAS ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 24.saate göre 5.gün TAS ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 10.saate göre 5.gün TAS ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).

PAB+NAC grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

PAB+NAC grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün TAS ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 24.saate göre 5.gün TAS ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 10.dakikaya göre 5.gün TAS ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).

PAB+LA+NAC grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

PAB+LA+NAC grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün TAS ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 24.saaate göre 5.gün TAS ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 10. dakikaya göre 5.gün TAS ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).



Şekil 11: Takiplerdeki TAS ölçümlerinin dağılımı

GPX-1 Ölçümlerine İlişkin Değerlendirmeler

Tablo 5: Gruplarda 10.dakika GPX-1 Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

		10. dakika GPX-1 ölçümleri	İkili karşılaştırmalar; ^a p
¹ KONTROL	Min-Mak (Medyan)	2,15-3,69 (2,69)	
	Ort±Ss	2,81±0,56	
² SHAM	Min-Mak (Medyan)	3,2-3,67 (3,47)	<i>p</i> ₁₋₂ : 0,039*
	Ort±Ss	3,47±0,17	
³ PAB	Min-Mak (Medyan)	4,06-4,29 (4,23)	<i>p</i> ₁₋₃ : 0,002**
	Ort±Ss	4,20±0,08	
⁴ PAB+LA	Min-Mak (Medyan)	4,42-4,85 (4,6)	<i>p</i> ₁₋₄ : 0,002**
	Ort±Ss	4,61±0,13	
⁵ PAB+NAC	Min-Mak (Medyan)	4,21-4,61 (4,44)	<i>p</i> ₁₋₅ : 0,002**
	Ort±Ss	4,41±0,13	
⁶ PAB+LA+NAC	Min-Mak (Medyan)	4,52-4,92 (4,79)	<i>p</i> ₁₋₆ : 0,002**
	Ort±Ss	4,74±0,13	
^a MannWhitney U Test		** <i>p</i> <0.01	* <i>p</i> <0.05

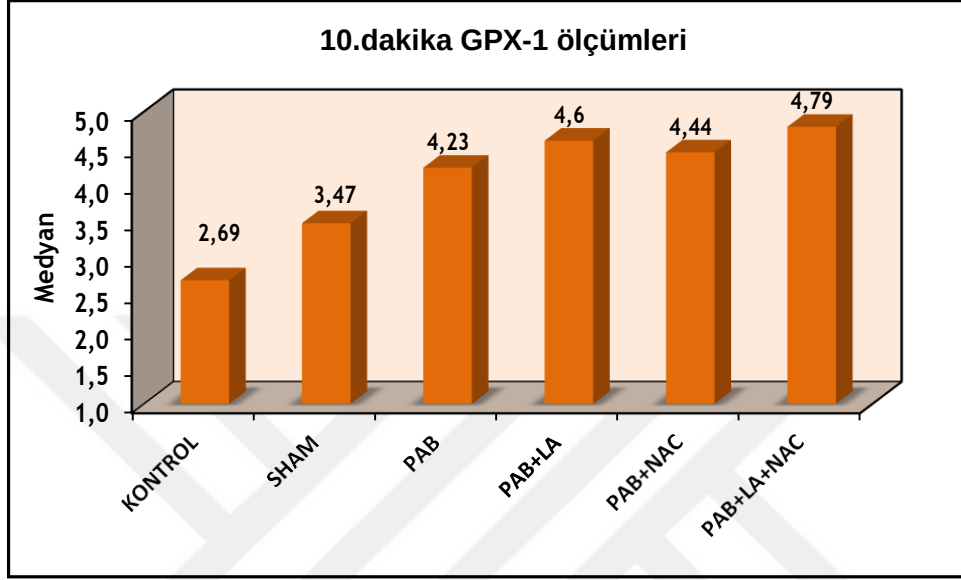
Kontrol grubu ile SHAM grubunun GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (*p*=0.039; *p*<0.05); SHAM grubunun GPX-1 ölçümleri, kontrol grubundan daha yüksektir.

Kontrol grubu ile PAB grubunun GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (*p*=0.002; *p*<0.01); PAB grubunun GPX-1 ölçümleri, kontrol grubundan daha yüksektir.

Kontrol grubu ile PAB+LA grubunun GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (*p*=0.002 *p*<0.01); PAB+LA grubunun GPX-1 ölçümleri, kontrol grubundan daha yüksektir.

Kontrol grubu ile PAB+NAC grubunun GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (*p*=0.002 *p*<0.01); PAB+NAC grubunun GPX-1 ölçümleri, kontrol grubundan daha yüksektir.

Kontrol grubu ile PAB+LA+NAC grubunun GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.002$ $p<0.01$); PAB+LA+NAC grubunun GPX-1 ölçümleri, kontrol grubundan daha yüksektir.



Şekil12: 10.dakika GPX-1 ölçümleri dağılımı

Tablo 6:TakiplerdekiGPX-1 Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

		GPX-1 ölçümleri			^d p	^c p
		10.dakik a	24. saat	5.gün		
¹ SHAM	Min-Mak (Medya n)	3,2-3,67 (3,47)	3,14- 3,48 (3,28)	3,36- 3,98 (3,76)	0,001* *	10.dk=24.saat p:0,137 10.dk=5.gün p:0,137 24.saat<5.günp:0,001 **
	Ort±Ss	3,47±0,1 7	3,30±0,1 1	3,71±0,2 1		
² PAB	Min-Mak (Medya n)	4,06- 4,29 (4,23)	4,25- 4,59 (4,42)	4,56- 4,84 (4,68)	0,001* *	10.dk=24.saat p:0,137 10.dk<5.gün p:0,001** 24.saat=5.günp:0,137
	Ort±Ss	4,20±0,0 8	4,43±0,1 8	4,68±0,0 8		
³ PAB+LA	Min-Mak (Medya n)	4,42- 4,85 (4,6)	4,75- 5,27 (4,99)	5,28- 5,69 (5,62)	0,001* *	10.dk=24.saat p:0,137 10.dk<5.gün p:0,001** 24.saat=5.günp:0,137
	Ort±Ss	4,61±0,1 3	4,99±0,1 8	5,54±0,1 6		
⁴ PAB+NAC	Min-Mak (Medya n)	4,21- 4,61 (4,44)	4,42- 4,78 (4,65)	4,76- 5,25 (4,93)	0,001* *	10.dk=24.saat p:0,137 10.dk<5.gün p:0,001** 24.saat=5.günp:0,137
	Ort±Ss	4,41±0,1 3	4,61±0,1 2	4,98±0,1 8		
⁵ PAB+LA+NAC	Min-Mak (Medya n)	4,52- 4,92 (4,79)	4,85- 5,25 (5,05)	5,52- 5,97 (5,85)	0,001* *	10.dk=24.saat p:0,137 10.dk<5.gün p:0,001** 24.saat=5.günp:0,137
	Ort±Ss	4,74±0,1 3	5,06±0,1 3	5,82±0,1 5		
^b p		0,001**	0,001**	0,001**		
İkili karşılaştırmala r; ^c p	^p ₁₋₂	1,000	1,000	1,000		
	^p ₁₋₃	0,001**	0,001**	0,001**		
	^p ₁₋₄	0,051	0,140	0,113		
	^p ₁₋₅	0,001**	0,001**	0,001**		
	^p ₂₋₃	0,049*	0,031*	0,081		
	^p ₂₋₄	1,000	1,000	1,000		
	^p ₂₋₅	0,003**	0,009**	0,001**		
	^p ₃₋₄	1,000	0,665	1,000		
	^p ₃₋₅	1,000	1,000	1,000		
	^p ₄₋₅	0,215	0,279	0,106		

^bKruskal Wallis Test^cDunnBonferroni Test^dFriedman Test

*p<0.05

**p<0.01

10.dakika ölçümlerinin değerlendirilmesi

Gruplara 10.dakika GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Farklılığı yaratan grubu belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; SHAM grubunun 10.dakika GPX-1 ölçümleri, PAB+LA ve PAB+LA+NAC gruplarından daha düşüktür (sırasıyla $p=0.001$; $p=0.001$; $p<0.01$). PAB grubunun 10.dakika GPX-1 ölçümleri de, PAB+LA ve PAB+LA+NAC gruplarından daha düşüktür (sırasıyla $p=0.049$; $p=0.003$; $p<0.05$). Diğer grupların 10.dakika GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

24.saat ölçümlerinin değerlendirilmesi

Gruplara 24.saat GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Farklılığı yaratan grubu belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; SHAM grubunun 24.saat GPX-1 ölçümleri, PAB+LA ve PAB+LA+NAC gruplarından daha düşüktür (sırasıyla $p=0.001$; $p=0.001$; $p<0.01$). PAB grubunun 24.saat GPX-1 ölçümleri de, PAB+LA ve PAB+LA+NAC gruplarından daha düşüktür ($p=0.031$; $p=0.009$; $p<0.05$). Diğer grupların 24.saat GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

5.gün ölçümlerinin değerlendirilmesi

Gruplara 5.gün GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Farklılığı yaratan grubu belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; SHAM grubunun 5.gün GPX-1 ölçümleri, PAB+LA ve PAB+LA+NAC gruplarından daha düşüktür (sırasıyla $p=0.001$; $p=0.001$; $p<0.01$). PAB grubunun 5.gün GPX-1 ölçümleri de, PAB+LA+NAC grubundan daha düşüktür ($p=0.001$; $p<0.01$). Diğer grupların 5.gün GPX-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

SHAM grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

SHAM grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 24.saate göre 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).

PAB grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

PAB grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 24.saate göre 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 10.saate göre 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).

PAB+LA grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

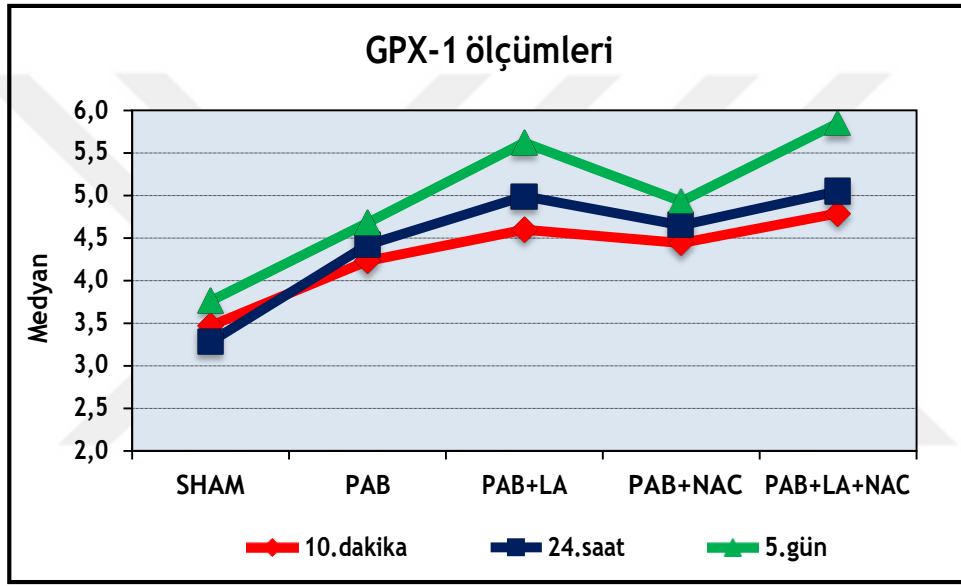
PAB+LA grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 24.saate göre 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 10. dakikaya göre 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).

PAB+NAC grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

PAB+NAC grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 24.saate göre 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 10.dakikaya göre 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).

PAB+LA+NAC grubun takiplerdeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

PAB+LA+NAC grubunun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.001$; $p<0.01$). Yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; 10.dakikaya göre 24.saat ve 24.saaate göre 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0.05$); 10.dakikaya göre 5.gün GPX-1 ölçümlerindeki artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$).



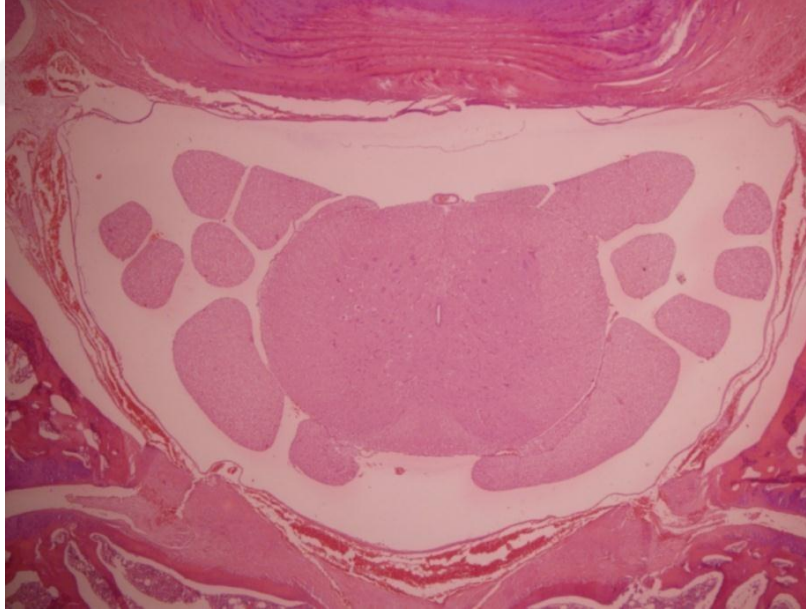
Şekil 13: Takiplerdeki GPX-1 ölçümlerinin dağılımı

7-2.Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubunda elde edilen sonuçlar aşağıda tabloda görülmektedir (Tablo7).
Kontrol grubu histopatolojik inceleme örneği Şekil 14'de görülmektedir.

Tablo 7: Kontrol grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

Kontrol	Ödem	Nekroz	Enflamatuvar Hücre	Kanama
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
6	0	0	0	0

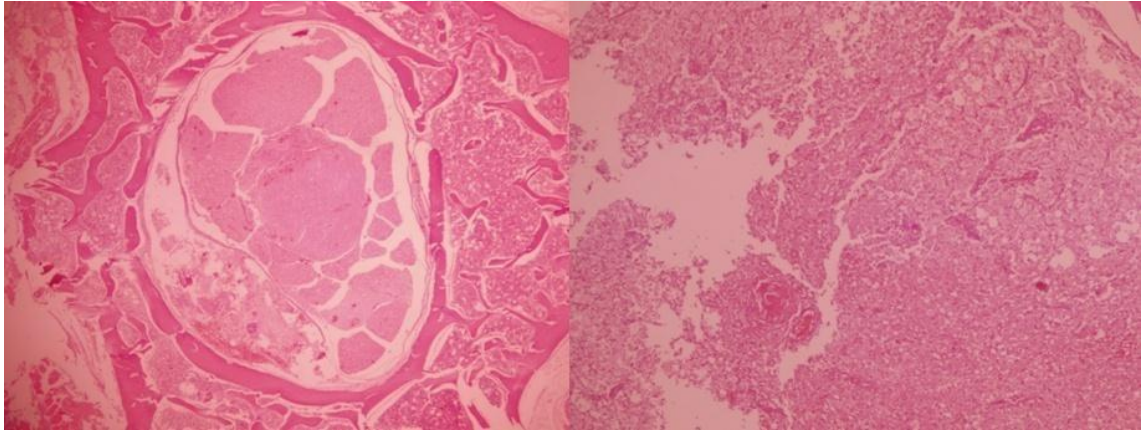


Şekil 14: Kontrol grubu patolojik incelemesi

Sham grubunda elde edilen sonuçlar aşağıda tabloda görülmektedir (Tablo 8).
Sham grubu histopatolojik inceleme örneği Şekil 15’de görülmektedir.

Tablo 8: Sham grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

Sham	Ödem	Nekroz	Enflamatuar Hücre	Kanama
1	P	%60	N	N
2	P	%90	N	P
3	P	N	N	P
4	P	%95	P	N
5	P	%90	N	P
6	N	%30	N	N



H&E 4X

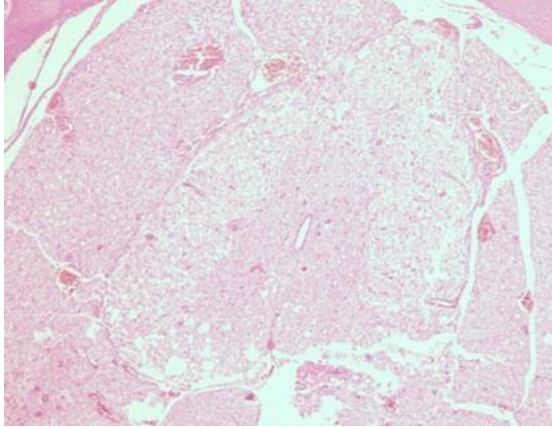
H&E 10X

Şekil 15: Sham grubu patolojik incelemesi

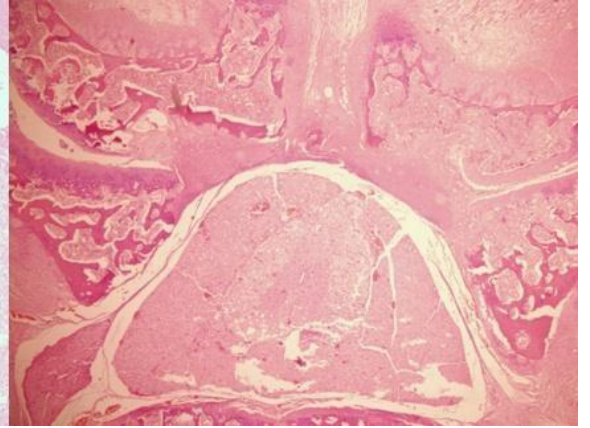
PAB grubunda elde edilen sonuçlar aşağıda tabloda görülmektedir (Tablo 9). PAB grubu histopatolojik inceleme örneği Şekil 16'da görülmektedir.

Tablo 9: PAB grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

PAB	Ödem	Nekroz	Enflamatuvar Hücre	Kanama
1	P	%40	N	N
2	P	N	N	N
3	N	N	N	N
4	P	%40	N	P
5	N	%20	N	N
6	P	%30	N	P
7	P	%50	N	P



H&E 4X



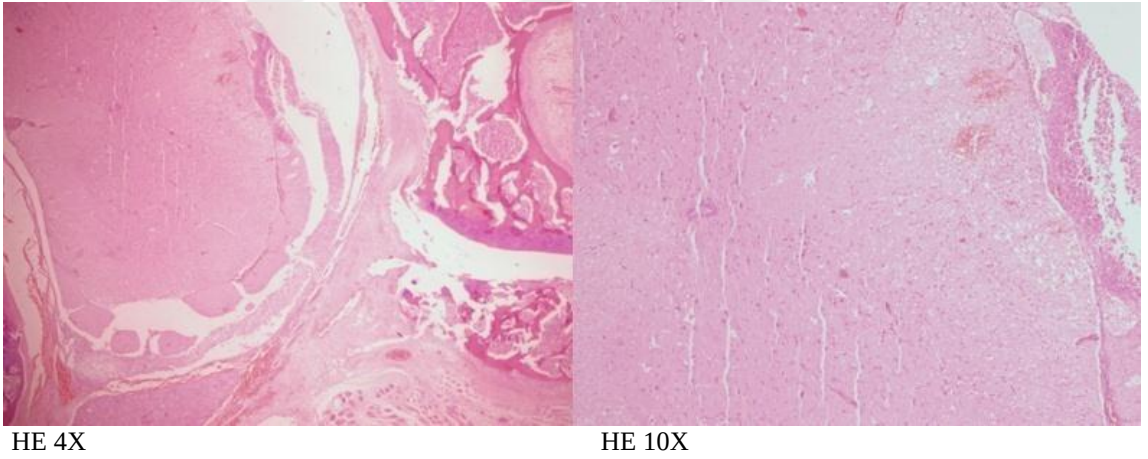
H&E 10X

Şekil 16: PAB grubu patolojik incelemesi

PAB+LA grubunda elde edilen sonuçlar aşağıda tabloda görülmektedir (Tablo 10). PAB+LA grubu histopatolojik inceleme örneği Şekil 17’de görülmektedir.

Tablo 10: PAB+LA grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

PAB+LA	Ödem	Nekroz	Enflamatuar Hücre	Kanama
1	P	%10	P	N
2	P	N	P	P
3	N	N	N	N
4	P	N	N	N
5	N	N	N	N
6	N	N	N	N

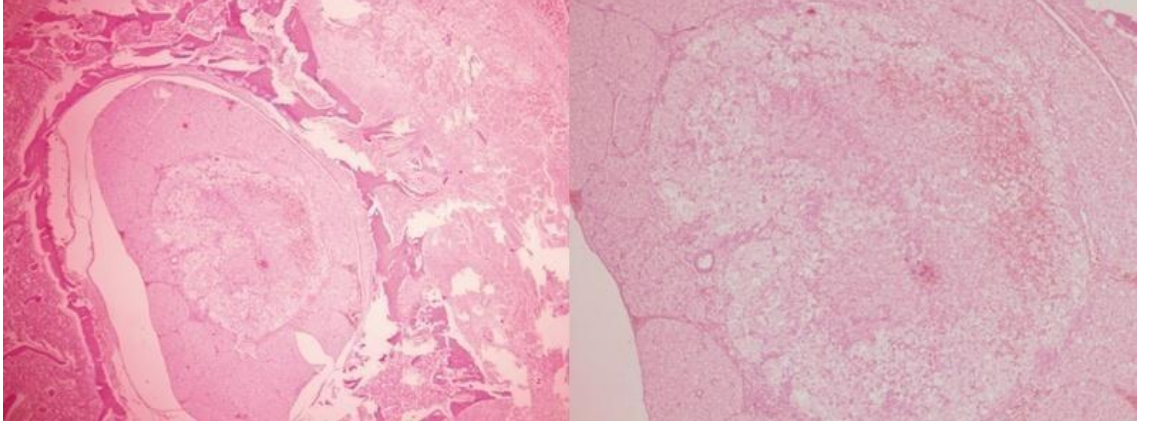


Şekil 17: PAB+LA grubu patolojik incelemesi

PAB+NAC grubunda elde edilen sonuçlar aşağıda tabloda görülmektedir (Tablo11). PAB+NAC grubu histopatolojik inceleme örneği Şekil 18’de görülmektedir.

Tablo 11: PAB+NAC grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

PAB+NAC	Ödem	Nekroz	Enflamatuar Hücre	Kanama
1	P	%20	P	N
2	N	%10	N	N
3	P	%60	P	P
4	P	N	N	N
5	N	N	N	N
6	P	%5	N	N



H&E 4X

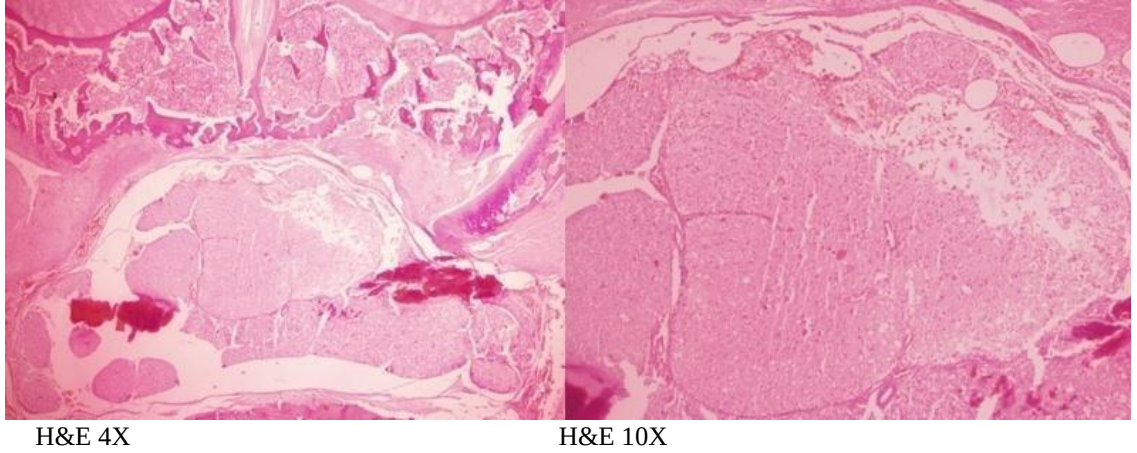
H&E 10X

Şekil 18: PAB+NAC grubu patolojik incelemesi

PAB+LA+NAC grubunda elde edilen sonuçlar aşağıda tabloda görülmektedir (Tablo 12). PAB+LA+NAC grubu histopatolojik inceleme örneği Şekil 19’de görülmektedir.

Tablo 12: PAB+NAC+LA grubunda yer alan deneklerden elde edilen örneklerdeki değişiklik sonuçları

PAB+LA+NAC	Ödem	Nekroz	Enflamatuvar Hücre	Kanama
1	N	%40	N	N
2	N	%10	N	N
3	P	%30	N	P
4	P	%10	P	P
5	P	%20	N	P
6	N	N	N	N

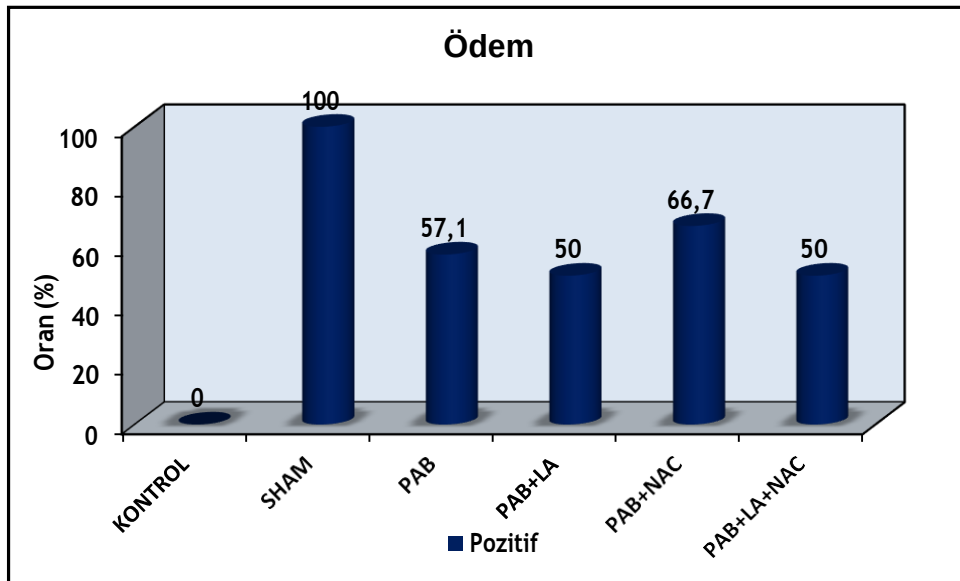


Şekil 19: PAB+NAC+LA grubu patolojik incelemesi

Tablo13 : Gruplara Göre Patoloji Sonuçlarının Değerlendirilmesi

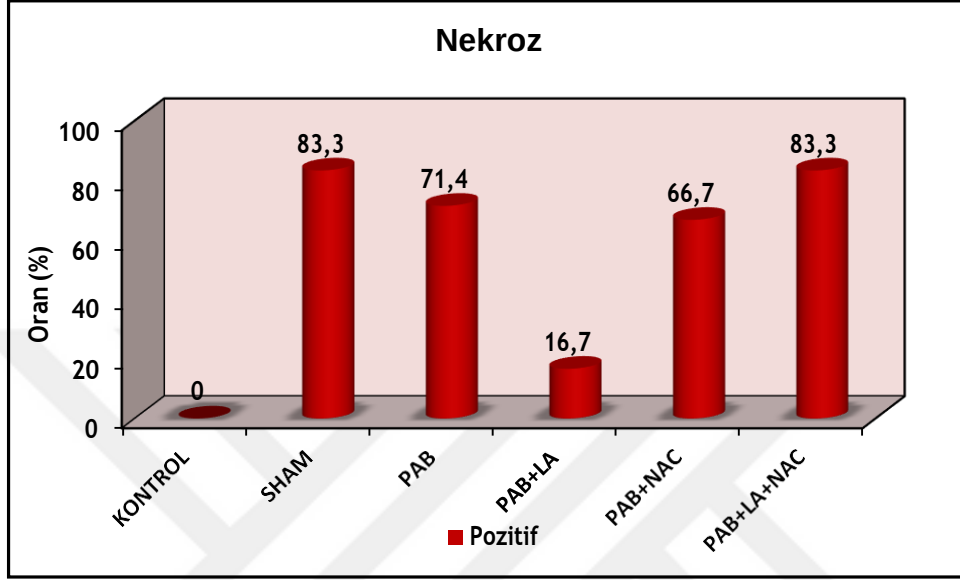
		KONTROL	SHAM	PAB	PAB+LA	PAB+NAC	PAB+LA+NAC	p
Ödem	Negatif	6 (100)	0 (0)	3 (42,9)	3 (50,0)	2 (33,3)	3 (50,0)	0,016*
	Pozitif	0 (0)	6 (100)	4 (57,1)	3 (50,0)	4 (66,7)	3 (50,0)	
Nekroz	Negatif	6 (100)	1 (16,7)	2 (28,6)	5 (83,3)	2 (33,3)	1 (16,7)	0,005**
	Pozitif	0 (0)	5 (83,3)	5 (71,4)	1 (16,7)	4 (66,7)	5 (83,3)	
Kanama	Negatif	6 (100)	4 (66,7)	7 (100)	4 (66,7)	3 (50,0)	5 (83,3)	0,180
	Pozitif	0 (0)	2 (33,3)	0 (0)	2 (33,3)	3 (50,0)	1 (16,7)	
Enflamatuvar hücre	Negatif	6 (100)	4 (66,7)	4 (57,1)	5 (83,3)	5 (83,3)	3 (50,0)	0,422
	Pozitif	0 (0)	2 (33,3)	3 (42,9)	1 (16,7)	1 (16,7)	3 (50,0)	
Toplam		6	6	7	6	6	6	
FisherFreemanHaltonExact Test			*p<0.05	**p<0.01				

Gruplara göre ödem görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.016$; $p<0.05$); SHAM grubunda ödem görülme oranı, Kontrol grubundan daha yüksektir. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemektedir.



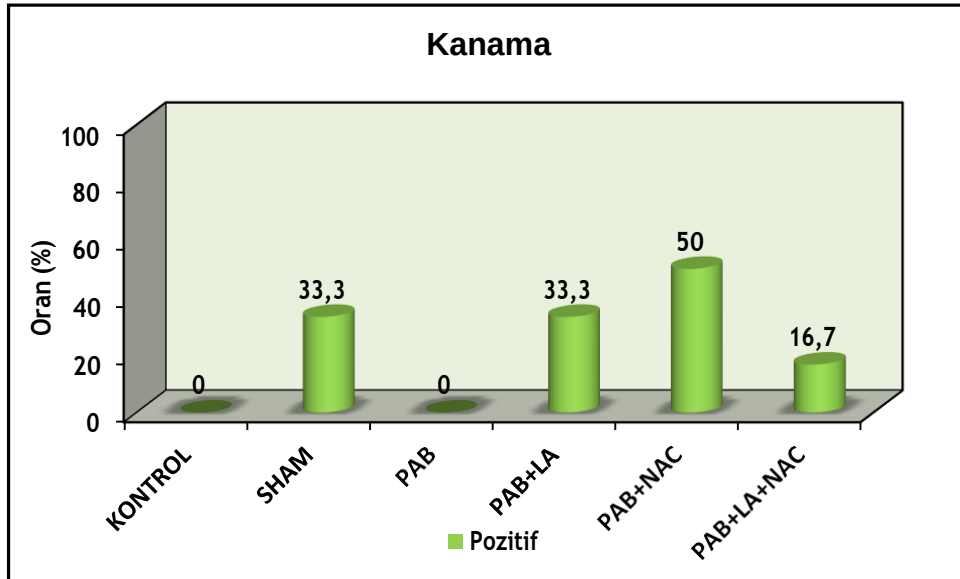
Şekil 20: Ödem varlığına ilişkin dağılım

Gruplara göre nekroz görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.005$; $p<0.01$); SHAM, PAB ve PAB+LA+NAC gruplarında nekroz görülme oranı, Kontrol ve PAB+LA gruplarından daha yüksektir. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemektedir.



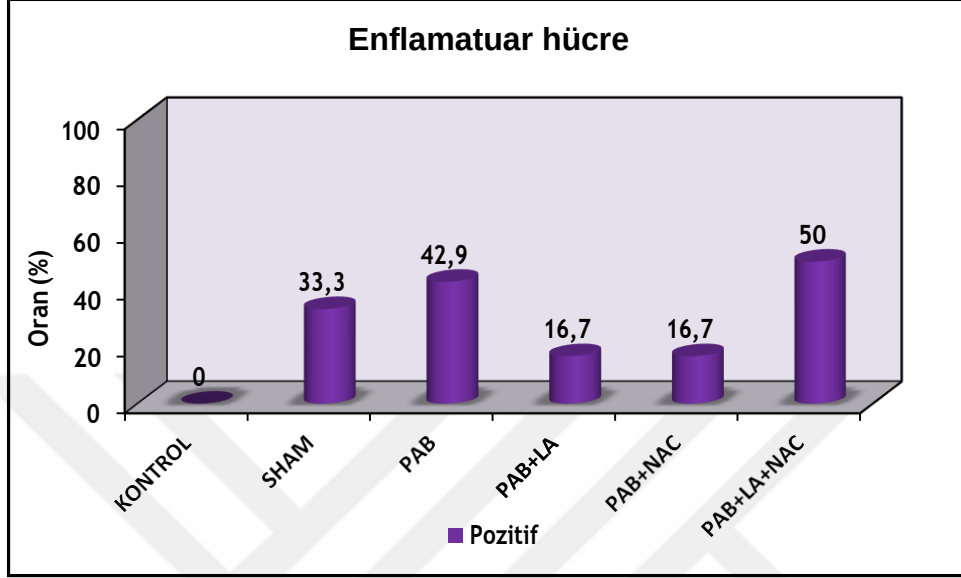
Şekil 21: Nekroz varlığına ilişkin dağılım

Gruplara göre kanama görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 22: Kanama varlığına ilişkin dağılım

Gruplara göre enflamatuar hücre görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 23: Enflamatuar hücre varlığına ilişkin dağılım

8. TARTIŞMA

TSKH, kalıcı duyu kaybına ve lezyon seviyesinin altında otonomik fonksiyonların kaybına neden olabilir ve tedavisi en zor klinik problemlerden biridir (91). Hastaların hem tedaviden hem de tedavi sonrası rehabilitasyondan gördüğü fayda henüz istenilen seviyeye ulaşamamıştır.

TSKH, temel olarak 2 fazdan oluşur; primer hasar mekanizması (başlangıçtaki mekanik hasar) ve sekonder hasar mekanizması (vasküler, biyokimyasal değişiklikler). Primer hasar, traksiyon ve kompresyon gibi kuvvetleri içeren ilk travmayı kapsar. Birkaç dakika içinde merkezi ve periferik sinir sistemi, nöral elemanların doğrudan kompresyonu sonucu yaralanır. Hasar görmüş kan damarları, zedelenmiş aksonlar ve nöral hücre membranı hasarı sonucu spinal kordun ödeminin artması, venöz kan basıncını aştığında ikincil iskemi ortaya çıkar (92). Sekonder hasar; elektrolit bozuklukları, serbest radikallerin ortaya çıkması, vasküler iskemi, ödem, posttravmatik inflamatuvar reaksiyon, apoptozis ve diğer hücresel düzeyde hasar ile ortaya çıkar (93). Birincil yaralanma için tedaviler sınırlı olsa da, TSKH sonrası ikinci hasarı hafifletmede inflamatuvar reaksiyonun önemini vurgulayan araştırmalar vardır (94).

Literatürde günümüze kadar TSKH tedavisinde birçok ajan denenmiş ve araştırılmıştır. Ancak, TSKH'nda etkinliği kanıtlanmış bir tedavi protokolü mevcut değildir. Sadece MP tedavi protokolü mevcut olup, etkinliği tartışmalıdır. Metilprednizolün tekrarlanabilir yararlı etkileri yoktur ve yan etkisi fazladır (14,15). Son yayınlarda, akut spinal kord hasarı tedavisinde MP protokolü önerilmemektedir ve tedavi algoritmasından da çıkarılmıştır (16).

EGF'nin remiyelinizasyon için önemli bir molekül olduğu, erişkin omurilikte potansiyel bir endojen progenitör / kök hücre kaynağı olan ependimal hücrelerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını uyardığı gösterilmiştir (95). Ayrıca, EGF'nin nöroprotektif bir etki gösterdiği ve TSKH'dan sonra kan omurilik bariyerinin bozulmasını önlemek için potansiyel terapötik müdahaleler sağladığı gösterilmiştir. Öte yandan, daha önceki çalışmalarda EGF reseptörünün inhibisyonunun, reaktif astrogliozu ve doku hasarını azalttığı, hayvan modellerinde fonksiyonel sonucu

iyileştirdiği bildirildi (96,97,98,99). Nörotravma sonrası lezyon bölgesinde ve astrositlerin çevresinde, EGFR ve ligandlarında hızlı artış gözlenir (19). EGFR aktivasyonu astrosit reaktivitesini tetikler ve büyüme moleküllerinin sekresyonunu düzenler. Böylelikle lezyon sahasında glial skarı artırır ve akson rejenerasyonunu inhibe eder (20). Sıçanlarda TSKH sonrası, EGFR spesifik inhibitör ile yapılan tedavide glia skar formasyonunda azalma, aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel yenilenmede artış gözlenmiştir (21). EGFR yolağını iki şekilde inhibe edebiliriz;

1-Ekstrasellüler bölgedeki EGFR'nin monoklonal antibody'ler ile inhibisyonu

2-Oral tirozin kinaz inhibitörleri ile (EGFR, tirozin kinaz aktivasyonunu sağlıyor)

Panitumumab (PAB), human IgG2 monoklonal antibody olup, epidermal growth faktör (EGF) antagonistidir ve EGFR'ye direkt etkilidir (22). EGFR'ye spesifik olarak bağlanır ve EGFR ligandlarını yarışmalı olarak inhibe eder.

Sekonder hasara bağlı oksidatif stres sırasında, mitokondride moleküler oksijen yetersiz olacak şekilde azalır, bu da aşırı ROS seviyeleriyle sonuçlanır. Normal koşullar altında, ROS üretimi ve bozulması arasında bir denge mevcuttur (100,101). Fakat, TSKH'nda ROS düzeylerinde anlamlı artış gözlenmiştir (102). ROS'un fazla artışı ile lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı gibi çeşitli yıkıcı etkiler ortaya çıkar. Ek olarak, ROS hücre ölümüne neden olan belirli basamakları aktive edebilir (103). Organizmalarda, ROS'un zararlı etkilerine karşı koymak için antioksidan sistemler gelişmiştir. En gelişmiş antioksidan olarak glutatyon gösterilebilir. Glutatyon, kompleks bir molekül olup, sistein, glisin ve glutamattan meydana gelmektedir. Alfa-lipoik asit (LA) ve N-asetil sistein (NAC), thio derivasyonları olup, glutatyondan üretilmektedir ve antioksidan sistemin olmazsa olmaz elemanlarıdır (26,27). Hayvanlar ve insanlar tarafından sentezlenen lipoik asit (LA) (1,2-ditiolan-3-pentanoik asit), piruvat, ketogluterat ve dallanmış zincir gibi keto asitlerin oksidatif dekarboksilasyonunu katalize eden çoklu enzim komplekslerinde bir kofaktördür (104). LA, krebs siklusundan identifiye edilmiş bir koenzimdir (28). Sadece metal iyonlarını şelate etmekle kalmayıp, ROS'u etkisizleştirme ve glutatyonu restore etme etkileri de vardır (29). NAC, thiol derivasyonu olup, mitokondrideki redoksan seviyesinin korunmasından sorumludur. NAC sistein için asetillenmiş bir

öncüdür ve mitokondri biyoenerjisinin korunmasında ve antiinflamatuvar etkilerin sergilenmesinde rol oynar. NAC'nin, pro-enflamatuar sitokinlerin seviyelerini azaltarak, anti-enflamatuar aktiviteye sahip olduğu varsayılmıştır. NAC'ın nöroprotektif etkilerine hem antioksidan hem de antiinflamatuvar etkilerin aracılık ettiği görülmektedir (105). Nöral dokunun antioksidan kapasitesi mevcut olup (31), LA ve NAC gibi potansiyel maddeler, ROS'un zararlı etkilerini azaltarak nöroproteksiyon sağlamaktadır.

Bu çalışmada; deneysel travmatik spinal kord hasarı yapılan sıçanlarda bir EGFR antagonisti olan Panitumumab'ın tek başına ve antioksidan moleküller ile kombine kullanımının, spinal kord hasarı sonrası gözlenen oksidatif stres ve histopatolojik parametreler üzerine etkilerinin araştırılması çalışıldı.

Gurcay ve ark (106) tarafından yapılan deneysel spinal kord travma modeli çalışmasında, LA ve NAC antioksidan ajanlarının uygulanmasının, spinal kord travmasından hemen sonra bile olsa, bazı ikincil yaralanma basamaklarını iyileştirebileceği, LA'nın, travmatik omurilik yaralanmasından sonraki sekonder yaralanma basamaklarına karşı savunma etkinliği, bu antioksidan ajanın, omurilik yaralanmasından sonra destek tedavisi olarak klinik kullanımını teşvik etmek için faydalı olabileceği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da, PAB+LA+NAC uygulanan grubun 10.dakika, 24.saat ve 5.gün, biyokimyasal (TAS ve GPX-1) ve histopatolojik ölçümlerindeki değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı veriler saptanmıştır. Bu grupta ödem görülme oranı, sham grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak azaldığı görüldü. Bu durum, spinal kord travmasına bağlı sekonder hasarın azaldığını göstermektedir.

Toklu ve ark (107) tarafından yapılan başka bir deneysel spinal kord travma modeli çalışma sonucunda LA ile yapılan tedavinin, omurilik dokusunda spinal kord hasarı ile indüklenmiş serbest radikallerin, lipid peroksidasyonunun, nötrofil infiltrasyonunun ve DNA hasarının önemli ölçüde inhibe ettiğini açıkça gösterirken, tükenmiş antioksidan GSH seviyelerinin kontrol seviyelerine geri yükseltildiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da, PAB+LA kullanılan grupta nekroz ve ödem görülme oranının anlamlı ölçüde azaldığını gösterdik. Biyokimyasal belirteçlerin

(TAS ve GPX-1), 10.dakikaya göre 5.gün ölçümlerindeki artış anlamlı bulunmuş ve oksidatif stres düzeyinin azaltıldığı gösterilmiştir.

Taş ve ark (108) tarafından yapılan başka bir deneysel spinal kord travma modeli çalışma sonucunda alfa lipoik asit, lipid peroksidasyonunun önlenmesi için metilprednizolon tedavisinden daha etkili olduğu, TSKH hiperakut aşamasında omurilik yaralanmasından sonra, metilprednizolon ve alfa lipoik asidin antioksidan etkisi farklı yollardan sağlanmakta olduğu, bu farklı antioksidan mekanizmalar akut aşamada ek koruma sağlayabileceği, ancak her ajanın, subakut aşamada histopatolojik ve biyokimyasal iyileşme üzerinde neredeyse benzer etkilerinin olduğu ve dolayısıyla, alfa lipoik asidin en azından ikincil TSKH üzerindeki metilprednizolon kadar etkili bir madde olduğunu iddia edilmiştir. Bizim çalışmamızda da, LA kullanılan gruplarda ödem daha az olduğu ve oksidatif stres düzeyinin azaltıldığı gösterilmiştir.

Guo ve ark (109) tarafından yapılan deneysel spinal kord travması çalışmasında, NAC'ın omurilik travmasını takiben mitokondriyal disfonksiyon kaynaklı oksidatif stresi önlemek için potansiyel terapötik uygulamalar sağlayabileceğini göstermektedir. Bizim yaptığımız çalışmada, oksidatif strestin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal ölçümler sonucunda, NAC kullanılan grupta oksidatif stres düzeyinin azaltıldığı gösterildi.

Sonuç olarak bu bilgiler eşliğinde, travmatik spinal kord hasarı tedavisinde Panitumumab'ın ve nöroprotektif antioksidanlardan Alfa Lipoik Asitin ve N-Asetil Sisteinin sekonder yaralanma üzerine olan etkileri biyokimyasal ve histopatolojik parametler üzerinden gösterilmiştir. Her ne kadar Panitumumab, Alfa Lipoik Asit ve N-Asetilsistein tek başına kullanıldığında, ödem, nekroz gibi parametrelerde tek başına kısmi düzelme sağlasa da, kombine kullanımlarında biyokimyasal ve histopatolojik parametreler üzerinden daha etkili olduğu, bu çalışmada gösterilmiştir. Literatürde travmatik spinal kord hasarı üzerine, Alfa Lipoik Asitin ve N-Asetil Sisteinin, nöroprotektif etkinliği ile ilgili yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Travmatik spinal kord hasarında, bir EGFR antagonisti olan Panitumumab'ın, biyokimyasal parametreler ve histopatolojik veriler kıyaslanarak yapılan ilk çalışma olduğu görülmektedir.

9. SONUÇLAR

Bu çalışmadaki veriler eşliğinde, travmatik spinal kord travması tedavisinde, travmaya sekonder oluşan hasarların, bir EGFR antagonisti olan Panitumumab'ın tek başına kullanımın etkili olabileceği, ancak nöroprotektif ve antioksidan etkinliği olan LA ve NAC ile kombine kullanılması durumunda biyokimyasal parametreler ve histopatolojik değerler açısından bakıldığında bu etkinliğinin daha da arttığı deneysel olarak gösterilmiştir. Daha fazla denek kullanılarak, daha uzun süreli takip yapılarak ve daha geniş kapsamlı verilerden yararlanarak yapılacak olan çalışmalarla bu bulgular desteklenebilir.



10. KAYNAKLAR

1. Goldshmit Y, Kanner S, Zacs M, Frisca F, Pinto AR, Currie PD, PinkasKramarski R (2015) Rapamycin increases neuronal survival, reduces inflammation and astrocyte proliferation after spinal cord injury. *Mol Cell Neurosci* 68:82–91
2. Karamehmetoğlu S.S., Unal S., Karacan I., Yılmaz H., Togay H. S., Ertekin M., et all. Traumatic spinal cord injuries in Istanbul, Turkey: An epidemiological study. *Paraplegia* 1995 Aug;33(8):469-71.
3. Selassie A., Cao Y., Saunders L.L. Epidemiology of Traumatic Spinal Cord Injury Among Persons Older Than 21 Years: A Population-Based Study in South Carolina, 1998-2012. *Top Spinal Cord Inj Rehabil* 2015 Fall;21(4):333-44.
4. Center NSCIS (2018) Facts and figures at a glance. The University of Alabama at Birmingham, Birmingham
5. Selassie A., Cao Y., Saunders L.L. Epidemiology of Traumatic Spinal Cord Injury Among Persons Older Than 21 Years: A Population-Based Study in South Carolina, 1998-2012. *Top Spinal Cord Inj Rehabil* 2015 Fall;21(4):333-44.
6. Wannapakhe J., Arrayawichanon P., Saengsuwan J., Amatachaya S. Medical complications and falls in patients with spinal cord injury during the immediate phase after completing a rehabilitation program. *J Spinal Cord Med* 2015 Jan;38(1):84-90.
7. Tator CH. Experimental and clinical studies of the pathophysiology and management of acute spinal cord injury. *J Spinal Cord Med* 1996; 19: 206-214.
8. Gülmen V, Zileli M. Omurilik yaralanmasında farmakolojik tedavi. In: Zileli M, Özer F (eds): Omurilik ve omurga cerrahisi, 2. baskı. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002: 833-839.
9. Kaptanoğlu E, Tator CH. Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma stratejileri. In: Zileli M, Özer F (eds): Omurilik ve omurga cerrahisi, 2. baskı. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002: 813-832.
10. Aslan GÜZEL, Mehmet TATLI, Ali İhsan ÖKTEN, Süleyman ÇAYLI, Omurilik Yaralanmasının Patoloji Ve Fizyopatolojisi, C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 28 (2): 73 – 78, 2006
11. Wen-sheng Qu, Dai-shi Tian, Zhi-bao Guo et all., Inhibition of EGFR/MAPK signaling reduces microglial inflammatory response and the associated secondary damage in rats after spinal cord injury, Qu et al. *Journal of Neuroinflammation* 2012, 9:178, DOI:10.1186/1742-2094-9-178
12. Popovich PG, Guan Z, Wei P, Huitinga I, van Rooijen N, Stokes BT: Depletion of hematogenous macrophages promotes partial hindlimb recovery and neuroanatomical repair after experimental spinal cord injury. *Exp Neurol* 1999, 158:351–365.
13. R. J. Hurlbert, M. N. Hadley, B. C. Walters et al., “Pharmacological therapy for acute spinal cord injury,” *Neurosurgery*, vol. 72, Supplement 2, pp. 93–105, 2013.
14. H. Chikuda, H. Yasunaga, K. Takeshita et al., “Mortality and morbidity after high-dose methylprednisolone treatment in patients with acute cervical spinal cord injury: a propensity matched analysis using a nationwide administrative database,” *Emergency Medicine Journal*, vol. 31, no. 3, pp. 201–206, 2014.

15. R. J. Hurlbert, M. N. Hadley, B. C. Walters et al., "Pharmacological therapy for acute spinal cord injury," *Neurosurgery*, vol. 72, Supplement 2, pp. 93–105, 2013.
16. H. Chikuda, H. Yasunaga, K. Takeshita et al., "Mortality and morbidity after high-dose methylprednisolone treatment in patients with acute cervical spinal cord injury: a propensity matched analysis using a nationwide administrative database," *Emergency Medicine Journal*, vol. 31, no. 3, pp. 201–206, 2014.
17. Eibar Ernesto Cabrera-Aldana, Fernando Ruelas, Cristina Aranda, Methylprednisolone Administration Following Spinal Cord Injury Reduces Aquaporin 4 Expression and Exacerbates Edema, Mediators of Inflammation Volume 2017, Article ID 4792932, 7 pages doi.org/10.1155/2017/4792932
18. Prenzel N., Fischer O. M., Streit S., Hart S. and Ullrich A. (2001) The epidermal growth factor receptor family as a central element for cellular signal transduction and diversification. *Endocr. Relat. Cancer* 8, 11–31.
19. Reynolds B. A. and Weiss S. (1992) Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 255, 1707–1710.
20. Ferrer I., Alcantara S., Ballabriga J. et al. (1996) Transforming growth factor- α (TGF- α) and epidermal growth factor-receptor (EGF-R) immunoreactivity in normal and pathologic brain. *Prog. Neurobiol.* 49, 99–000.
21. Liu B. and Neufeld A. H. (2004) Activation of epidermal growth factor receptors directs astrocytes to organize in a network surrounding axons in the developing rat optic nerve. *Dev. Biol.* 273, 297–307
22. Erschbamer M., Pernold K. and Olson L. (2007) Inhibiting epidermal growth factor receptor improves structural, locomotor, sensory, and bladder recovery from experimental spinal cord injury. *J. Neurosci.* 27, 6428–6435.
23. Vermorken JB, Stöhlmacher-Williams J, Davidenko I, et al, for the SPECTRUM investigators. Cisplatin and fluorouracil with or without panitumumab in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck (SPECTRUM): an open-label phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 697–710.
24. Karalija A, Novikova LN, Kingham PJ, Wiberg M, Novikov LN: The effects of N-acetyl-cysteine and acetyl-L-carnitine on neural survival, neuroinflammation and regeneration following spinal cord injury. *Neuroscience* 269:143-151, 2014
25. Floyd RA, West M, Hensley K: Oxidative biochemical markers; Clue to understanding aging in long-lived species. *Exp Gerontol* 36: 619–640, 2001
26. Laskin DL, Pendino KJ: Macrophages and inflammatory mediators in tissue injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 35: 655–677, 1995
27. Patel SP, Sullivan PG, Pandya JD, Goldstein GA, VanRooyen JL, Yonutas HM, Eldahan KC, Morehouse J, Magnuson DS, Rabchevsky AG: N-acetylcysteine amide preserves mitochondrial bioenergetics and improves functional recovery following spinal trauma. *Exp Neurol* 257:95-105, 2014
28. Skibska B, Józefowicz-Okonkwo G, Goraca A: Protective effects of early administration of alpha-lipoic acid against lipopolysaccharide-induced plasma lipid peroxidation. *Pharmacol Rep* 58(3):399-404, 2006

29. Reed LJ, DeBusk BG, Gunsalus IC, Hornberger CS Jr: Crystalline alpha-lipoic acid; a catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. *Science* 114:93-94, 1951
30. Akpınar D, Yargıoğlu P, Derin N, Alicigüzel Y, Sahin M, Agar A: The effect of lipoic acid on lipid peroxidation and visual evoked potentials (VEPs) in rats exposed to chronic restraint stress. *Int J Neurosci* 117: 1691–1706, 2007
31. Semple BD: Early preservation of mitochondrial bioenergetics supports both structural and functional recovery after neurotrauma. *Exp Neurol* 261:291-297, 2014
32. Gorąca A, Asłanowicz-Antkowiak K: Prophylaxis with α -lipoic acid against lipopolysaccharide-induced brain injury in rats. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 57(2):141-146 2009
33. Wiltse L. L: The history of spinal disorders. The adult spine. Principles and practice. 2. Baskı. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997: 3-40.
34. Adams F. The genuine Works of Hippocrates. Baltimore: Williams & Wilkins, 1939: 23.
35. Allen A. R. Remarks on the histopathological changes in spinal cord due to impact. *J Nerv Ment Dis* 1914, 41:141-147
36. Tator C.H., Fehlings M.G. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 1991 Jul;75(1):15-26.
37. Moore K. The Developing Human, 4. Baskı, Philadelphia, Londra, Toronto: WB Saunders, 1988, 334-401.
38. Carpenter M. B., and Sutin, J. Human Neuroanatomy. 8. Baskı, Baltimore: Williams & Wilkins, 1983.
39. Barson, A. J. The vertebral level of termination of spinal cord during normal and abdominal development. *J Anat* 106: 489, 1970.
40. Carpenter MB. Core Textbook of Neuroanatomy, 3. Baskı, Baltimore: Williams Wilkins, 1985:53-95
41. Standring S., Editor-in-Chief, Gray's Anatomy of the Human Body-Find-in depth information on the anatomy and physiology of the human body. 20. Baskı, Philadelphia-Lea & Febiger 2000.
42. Netter FH. The Ciba Collection of Medical Illustrations, Cilt 1, 1. Baskı, New Jersey: CIBA Pharma, 1983:11-20.
43. Fehlings MG, Tator CH. An evidence-based review of decompressive surgery in acute spinal cord injury: rationale, indications, and timing based on experimental and clinical studies. *J Neurosurg*. 1999 Jul;91(1 Suppl):1-11.
44. Zhang T., Harstad L., Parisi J. E., Murray M.J. The size of the anterior spinal artery in relation to the arteria medullaris magna anterior in humans. *Clin Anat* 1995;8(5):347-51.
45. 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
46. Dumont R. J, Okonkwo D.O., Verma S., Hurlbert R. J., Boulos P.T, Ellegala D.B., et al. Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. *Clin Neuropharmacol* 2001 Sep-Oct;24(5):254-64.

47. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J, Boulos PT, Ellega BE, Dumont AS. Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. Clin. Neuropharmacology 2001;24:254-264
48. 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
49. Gerçek A, Adil M, Konya D, Özgen S. Propofol Reduces Reactive Oxygen Radical Dependent Lipid Peroxidation after Experimental Spinal Cord Injury in Rats J.Neurol.Sci.[Turk] 2007;24:129-34
50. Kaptanoğlu E., Omurilik Yaralanması ve Değerlendirilmesi, Temel Nöroşirürji Cilt 2, Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları; 2005;1144-1162.
51. Fu ES, Tummala RP: Neuroprotection in brain and spinal cord trauma. Current opinion in anaesthesiology, 18: 181-187, 2005.
52. 40. Gray's Anatomy of the Human Body-Find-in depth information on the anatomy and physiology of the human body an yahoo education. Philadelphia. Lea & Febiger, 1918; Newyork Bartleby. com. 2000.
53. Greenamyre JT, Porter RHP. Anatomy and physiology of glutamate in the CNS. Neurology . 1994; 44 (Suppl 8): S7-S13.
54. Greene K. Pharmacological management of spinal cord injury: Current status of drugs designed to augment functional recovery of the injured human spinal cord. J Spinal Dis 1995; 5:355-366.
55. Kaptanoğlu E, Tator C. H. Omurilik Yaralanması Sonrası Nöral Koruma Stratejileri. In: Zileli M, Özer F: Omurilik ve Omurga Cerrahisi, 2. Baskı. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002:813-832.
56. Kantor PF, Lucien A, Kozak R, Lopaschuk GD. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase. Circulation Research. 2000;86(5):580-8.
57. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, et al. Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. Clinical neuropharmacology. 2001;24(5):254-64.
58. Guemouri L, Arthur Y, Herberth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. Cli.Chem 1991;1932-37
59. Henson PM, Johnston RB. Tissue Injury in Inflammation Oxidants, Proteinases, and Cationic Proteins. J. Clin. Invest 1987;79:669-74
60. Yanbeyi S. Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye. 1999. s. 88.
61. Cross CE, Halliwell B, Borish ET. Oxygen radicals and human disease. Annals of Internal Medicine 1987; 107: pp. 526-545.
62. Fırat S. Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz düzeyleri ve N-Asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. Uzmanlık Tezi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye. 1997. 95s.
63. Memişoğulları R. Diabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 3: 30-39.

64. Champe PC, Harvey RA. Glikozaminoglikanlar. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E. Lippincott's illustrated reviews serisinden: Biyokimya. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1997. s.147-156.
65. Liebman JF, Greenberg A. Mechanistic principles of enzyme activity. New York: VCH Publishers; 1988.
66. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995.
67. Hall ED, Yokers PA, Andrus PK: Biochemistry and Pharmacology of Lipid Antioxidant Inacute Brain and Spinal Cord Injury. J Neuro Trauma, 9 (1): 165-172, 1992
68. Bullock R., Fujisawa H. The role of glutamate antagonists for the treatment of CNS injury. J Neurotrauma 1992 May;9 Suppl 2:S443-62.
69. Fehlings M. G., Tator C. H., Linden R. D. The relationships among the severity of spinal cord injury, motor and somatosensory evoked potentials and spinal cord blood flow. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1989 Jul-Aug;74(4):241-59.
70. Horner PJ, Gage FH. Regenerating the damaged central nervous system. Nature. 2000 Oct 26;407(6807):963-970.
71. Hughes JT. The Edwin Smith Surgical Papyrus: an analysis of the first case reports of spinal cord injuries. Paraplegia. 1988;26(2):71-82.
72. Bareyre FM, Schwab ME. Inflammation, degeneration and regeneration in the injured spinal cord: insights from DNA microarrays. Trends in neurosciences. 2003;26(10):555-63.
73. Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin Önemi. Toraks Dergisi 2001; 2(1): 91-95
74. Parlakpınar H, Koç M, Acet A. Yaşlanmada Apoptozis Ve Melatoninin Etkisi. T Klin Tıp Bilimleri 2004; 24: 62-67.
75. Braugher JM, Hall ED. Involvement of lipid peroxidation in CNS injury. J Neurotrauma 1992; 9:1-7.
76. Tuma R. F., Vasthare U. S., Arfors K. E, Young W. F. Hypertonic saline administration attenuates spinal cord injury. J Trauma 1997 May;42(5 Suppl):S54-60.
77. Khan T, Havey RM, Sayers ST, Patwardhan A, King WW. Animal models of spinal cord contusion injuries. Lab Anim Sci. 1999;49(2):161-72.
78. Koyanagi I, Tator CH, Lea PJ. Three-Dimensional Analysis of the Vascular System in the Rat Spinal Cord with Scanning Electron Microscopy of Vascular Corrosion Casts. Part 2: Acute Spinal Cord Injury. Neurosurgery. 1993;33(2):285-92.
79. Hurlbert RJ, Hadley MN, Walters BC, et al. Pharmacological therapy for acute spinal cord injury. Neurosurgery. 2013;72(suppl 2):93-105.
80. Walters BC, Hadley MN, Hurlbert RJ, et al. Guidelines for the management of acute cervical spine and spinal cord injuries: 2013 update. Neurosurgery. 2013;60(suppl 1):82-91.
81. Teles AR, Cabrera J, Riew KD, Falavigna A. Steroid use for acute spinal cord injury in Latin America: a potentially dangerous practice guided by fear of lawsuit. World Neurosurg. 2016;88: 342-349.
82. Druschel C, Schaser KD, Schwab JM. Current practice of methylprednisolone administration for acute spinal cord injury in Germany: a national survey. Spine (Phila Pa 1976). 2013;38: E669-E677.
83. Fu ES, Tummala RP: Neuroprotection in brain and spinal cord trauma. Current opinion in anaesthesiology, 18: 181-187, 2005

84. Gülmen V, Zileli M. Omurilik yaralanmasında farmakolojik tedavi. In: Zileli M, Özer F (eds): Omurilik ve omurga cerrahisi, 2. baskı. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002: 833-839.
85. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, et al. Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1 year follow up. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury Study (NASCIS III). *J Neurosurg* 1998; 89: 699-706.
86. Hall ED, Braughler JM, McCall JM. Antioxidant effect in brain and spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992; 9:165- 172.
87. Tator CH. Experimental and clinical studies of the pathophysiology and management of acute spinal cord injury. *J Spinal Cord Med* 1996; 19:206-214.
88. Greene K. Pharmacological management of spinal cord injury: Current status of drugs designed to augment functional recovery of the injured human spinal cord. *J Spinal Dis* 1995; 5:355-366.
89. Huang Lixin, Mehta MP, Nanda A, et al. The role of multipl hyperbaric oxygenation in expanding therapeutic windows after acute spinal cord injury in rats. *J Neurosurg (Spine 2)* 2003; 99:198-205.
90. Yu Y, Matsuyama Y, Yanase M, et al. Effects of hyperbaric oxygen on GDNF expression and apoptosis in spinal cord injury. *Neuroreport*. 2004; 15(15):2369-2373.
91. I.C. Maier, M.E. Schwab, Sprouting, regeneration and circuit formation in the injured spinal cord: factors and activity, *Philos. T. R. Soc. B* 361 (2006) 1611e1634.
92. McDonald JW, Sadowsky C (2002) Spinal-cord injury. *Lancet* 359(9304):417–425.
93. Qiao F, Atkinson C, Song H, Morgan BP, Tomlinson S (2010) The alternative and terminal pathways of complement mediate post-traumatic spinal cord inflammation and injury. *Am J Pathol* 177(6):3061–3070.
94. Beattie MS (2004) Inflammation and apoptosis: linked therapeutic targets in spinal cord injury. *Trends Mol Med* 10(12):580–583.
95. Kojima A, Tator CH. Intrathecal administration of epidermal growth factor and fibroblast growth factor 2 promotes ependymal proliferation and functional recovery after spinal cord injury in adult rats. *J Neurotrauma* 2002;19:223–38
96. Sun D, Bullock MR, Altememi N, Zhou Z, Hagood S, Rolfe A, et al. The effect of epidermal growth factor in the injured brain after trauma in rats. *J Neurotrauma* 2010;27(5):923–38.
97. Zheng B, Ye L, Zhou Y, Zhu S, Wang Q, Shi H, et al. Epidermal growth factor attenuates blood-spinal cord barrier disruption via PI3 K/Akt/Rac1 pathway after acute spinal cord injury. *J Cell Mol Med* 2016;20(June (6)):1062–75.
98. Li ZW, Tang RH, Zhang JP, Tang ZP, Qu WS, Zhu WH, et al. Inhibiting epidermal growth factor receptor attenuates reactive astrogliosis and improves functional outcome after spinal cord injury in rats. *Neurochem Int* 2011;58 (7):812–9.
99. Zhang S, Ju P, Tjandra E, Yeap Y, Owlanj H, Feng Z. Inhibition of epidermal growth factor receptor improves myelination and attenuates tissue damage of spinal cord injury. *Cell Mol Neurobiol* 2016;36(October (7)):1169–78.
100. Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 82, 47–95. doi: 10.1152/physrev.00018.2001.

101. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39, 44–84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.
102. Ahuja, C. S., Wilson, J. R., Nori, S., Kotter, M. R. N., Druschel, C., Curt, A., et al. (2017). Traumatic spinal cord injury. *Nat. Rev. Dis. Primers* 3:17018. doi: 10.1038/nrdp.2017.18.
103. Sugawara, T., and Chan, P. H. (2003). Reactive oxygen radicals and pathogenesis of neuronal death after cerebral ischemia. *Antioxid. Redox Signal.* 5, 597–607. doi: 10.1089/152308603770310266.
104. Biewenga GP, Haenen GR, Bast A: The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *GenPharmacol* 1997; 29: 315–331.
105. Haber M, Abdel Baki SG, Grin’kina NM, Irizarry R, Ershova A, Orsi S, Grill RJ, Dash P, Bergold PJ: Minocycline plus N-acetylcysteine synergize to modulate inflammation and prevent cognitive and memory deficits in a rat model of mild traumatic brain injury. *Exp Neurol* 249:169-177, 2013.
106. Ahmet Gurhan GURCAY, Oktay GURCAN, Atila KAZANCI, Ismail BOZKURT, Salim SENTURK, Ebru BODUR, Omer Faruk TURKOGLU, Murad BAVBEK, Comparative Biochemical and Motor Function Analysis of Alpha Lipoic Acid and N-Acetyl Cysteine Treatment on Rats with Experimental Spinal Cord Injury, *Turk Neurosurg* 26(1):119-126, 2016, DOI:10.5137/1019-5149.JTN.14594-15.0
107. Hale Z. Toklu, Tayfun Hakan, Hasan Celik, Necat Biber, Can Erzik, Ayliz V. Ogunc, Dilek Akakin, Esra Cikler, Sule Cetinel, Mehmet Ersahin, Goksel Sener, Neuroprotective Effects of Alpha-Lipoic Acid in Experimental Spinal Cord Injury in Rats, *J Spinal Cord Med.* October 2010;33(4):401–409, PMC2964029.
108. Nilufer Tas, Bulent Bakar, Mustafa Omur Kasimcan, Serkal Gazyagci, Sebnem Kupana Ayva, Kamer Kılinc, Cetin Evliyaoglu, Evaluation of protective effects of the alpha lipoic acid after spinal cord injury: An animal study, *Injury, Int. J. Care Injured* 41 (2010) 1068–1074, doi:10.1016/j.injury.2010.05.027.
109. Jian Guo, Zhong Chen et al. N-acetylcysteine treatment following spinal cord trauma reduces neural tissue damage and improves locomotor function in mice, *Molecular Medicine Reports* 12: 37-44, 2015, DOI: 10.3892/mmr.2015.3390.

11. ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Duygu Ceman

Doğum yeri ve tarihi: Denizli / 02.04.1982

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: Selimiye Mahallesi, Tıbbiye Cd No:23, 34668

Üsküdar/İstanbul,

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

2019-Devam: Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilim Doktora Programı

2013-2019: Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği Uzmanlık Eğitimi

2005-2006: L'Université Paris 13 Faculté de Médecine, (ERASMUS Programı ile 5.sınıf 2.dönem)

2001-2007: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

III- Ünvanları

Tıp Doktoru 2007

Uzman Doktor 2019

IV- Mesleki Deneyimi

2008-2009 Ağrı Diyadin Devlet Hastanesi Acil Servis Doktorluğu (Mecburi Hizmet)

2009-2010 İstanbul Sultanbeyli Sağlık Ocağı Pratisyen Doktor

2011-2013 Eczacıbaşı Sağlık Hizmetleri Sorumlu Hekim

2013-2019 Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği Asistan Doktor

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayımları:

1. Locally Used Antibiotics for Spinal Infection Prophylaxis and Their Effects

on Epidural Fibrosis: an Experimental Laminectomy Study in Rats Using Rifamycin and Gentamycin, Inflammation. 2018 Nov 10. doi: 10.1007/s10753-018-0929-x

2. Spindle Cell Oncocytoma: Olgu Sunumu, Türk Nöroşirürji Derneği 32.Bilimsel Kongresi, Poster Sunumu
3. Radiological and Histopathological Analysis of the Stereotactic Brain Biopsy Patients:Retrospective Review, ElectronicPoster, XVI.WFNS World Congress of Neurosurgery, 20-252017
4. Retrospective Analysis of 110 Cases of Chronic Subdural Hematoma that are Surgically Treated, Electronic Poster, XVI.WFNS World Congress of Neurosurgery, 20-252017
5. Epidermoid Kist Kaynaklı Primer İntrakranyal Skuamöz Hücreli Karsinom- Olgu Sunumu, Türk Nöroşirürji Derneği 31.Bilimsel Kongresi, Poster Sunumu
6. Atipik Teratoid/Rabdoid Tümör:Olgu Sunumu,Türk Nöroşirürji Derneği 31.Bilimsel Kongresi, Poster Sunumu
7. Düşük Basıncılı Hidrosefali:4 Olguda Tanı ve Yönetim, Türk Nöroşirürji Derneği 31.Bilimsel Kongresi, Poster Sunumu
8. Hypotensive effects of intravenously administered uridine and cytidinein conscious rats:involvement of adenosine receptors, Eur J Pharmacol.2008Apr14;584(1):125-36. doi10.1016/j.ejphar.2008.01.044.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar: ERASMUS Öğrenci Değişim Bursu

Verdiği konferans ya da seminerler:

1. Sellar Bölge Tümörleri, Türk Nöroşirürji Derneği 32.Bilimsel Kongresi, Sözlü Sunum
2. Opere Edilen Beyin Metastazı Olgularının Demografik Açıdan Değerlendirilmesi, Türk Nöroşirürji Derneği 32. Bilimsel Kongresi, Sözlü Sunum
3. Hipofiz Adenomu Olgularında Radyolojik Verilerin Nüks Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi, Türk Nöroşirürji Derneği 32. Bilimsel Kongresi, Sözlü Sunum

4. Prognostic Factors of Local Recurrence in Atypical Meningiomas, Oral Presentation, XVI. WFNS World Congress of Neurosurgery, 20-25 2017

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri:

- 1.3.Acıbadem Gamma Knife Sempozyumu, 31 Mart 2018
- 2.İstanbul Hipofiz Sempozyumu ve Hipofiz Adenomlarının Tedavisinde Endoskopik Endonasal Kafa Tabanı Cerrahisi Kursu,23-24 Şubat 2018
- 3-Servikal ve Torakal Dejeneratif Omurga Sempozyumu, 21-24 Eylül 2017
- 4.19.Liv Sempozyum Günleri kapsamında düzenlenen Fluorescein Guided Rehberliğinde Beyin ve Sinir Cerrahisi konulu 2.Nöroşirürji Sempozyumu 28-29 Nisan 2017
- 5.Sağlık Bilimleri Üniversitesi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Kursu, 17-26 Nisan 2017
- 6.Türk Nöroşirürji Derneği 31.Bilimsel Kongresi, 29Mart-2Nisan 2017
- 7.2.İstanbul Hipofiz Sempozyumu ve Hipofiz Adenomlarının Tedavisinde Endoskopik Endonasal Kafa Tabanı Cerrahisi Kursu,3-4 Mart 2017
- 8.1.İstanbul Hipofiz Sempozyumu ve Hipofiz Adenomlarının Tedavisinde Endoskopik Endonasal Kafa Tabanı Cerrahisi Kursu,11-12 Mart2016
- 9.İstanbul Nöroşirürji Günleri 2014-2015-2016 2017-2018-2019
- 10.İstanbul Spinal Toplantıları 2014-2015-2016-2017-2018-2019

12. EKLER

EK 1

Evrak Tarih ve Sayısı: 25/09/2018-E.26116



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 46418926-605.02
Konu : Etik Kurul Kararı (2018-05/16) Hk.

Prof. Dr. Arif Tarkan ÇALIŞANELLER
(SBÜ Haydarpaşa Numune SUAM Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği)

Yürütücüsü olduğumuz "*Deneyel spinal kord hasarı modeli uygulanan sıçanlarda, akut döneminde Panitumumab uygulanması sonrası gözlenen biyokimyasal markerların oksidatif stress üzerine etkilerinin değerlendirilmesi*" başlıklı bilimsel çalışma önerisi, SBÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 12.09.2018 tarih ve 2018-05/16 sayılı toplantısında görüşülerek, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde ve sunulan prosedürlere uygun olarak, 3 yıllık bir süre içerisinde gerçekleştirilmesinin etik açıdan "uygun" olduğuna karar verilmiştir. Bilgilerinize rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Sadrettin PENÇE
SBÜ-HADYЕК Başkanı