

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL RAT OMURİLİĞİ YARALANMA MODELİNDE
SİKLOSPORİN TEDAVİ EDİCİ VE KORUYUCU ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Güven KILIÇ

BOLU

2014

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
İZZET BAYSAL TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL RAT OMURİLİĞİ YARALANMA MODELİNDE
SİKLOSPORİN TEDAVİ EDİCİ VE KORUYUCU ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Güven KILIÇ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ali Rıza GEZİCİ

BOLU

2014

ÖZET

DENEYSEL RAT OMURİLİĞİ YARALANMA MODELİNDE SİKLOSPORİN TEDAVİ EDİCİ VE KORUYUCU ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Giriş: Spinal kordun yaralanmaları ekonomik ve sosyal ciddi sorunlara yol açması ve halen kabul görmüş bir tedavi şemasının olmaması nedeniyle önemini korumaktadır. Primer ve sekonder hasarlanma olarak iki grupta incelenir. Primer hasarlanma travma esnasında ortaya çıkan kompresyon kontüzyon ve laserasyonu içerir. Buradaki hasarlanma miktarı travmanın büyüklüğüne, etki süresine ve absorbe edilen enerji miktarına bağlıdır. Sekonder hasarlanma ise primer hasarlanmanın tetiklediği dakikalar içinde ortaya çıkan günlerce devam eden metabolik ve biyokimyasal olayları içeren bir süreçtir. Bu alanda yapılan klinik ve deneysel araştırmalar çok büyük oranda sekonder hasarlanmayı önlemeye yöneliktir.

Method: Bu çalışmada klip kompresyon yöntemi kullanılarak meydana getirilen omurilik yaralanmaları histopatolojik (Luxol fast blue, hematoksilin –eozin ve TUNEL boyama yöntemi) ve hasar skoru muayene yöntemleri (eğik düzlem, motor muayene) kullanılarak siklosporin-A ‘nın ikincil hasar üzerindeki koruyucu ve tedavi edici etkinliği araştırıldı. Çalışmada 18 adet Sprague Dawley cinsi dişi erişkin rat kullanıldı. Anesteziyi takiben T7-T9 (Torakal vertebra) mesafesinden yapılan cilt insizyonu ile paravertebral adaleler sıyrıldı grup 1 (kontrol grubu), grup 2 (laminektomi+ kord basısı) ve grup 3 (laminektomi+kord basısı + siklosporin-A) verilen 6’şar rattan oluşan toplam üç grup oluşturuldu. Denekler 10 gün boyunca izlenerek nörolojik fonksiyonları 1. 3. 5. ve 10. günlerde kaydedildi. Histopatolojik inceleme için 10. günde sakrifiye edildi.

Bulgular: Histopatolojik incelemede Siklosporin-A (sandimmün-Novartis IV ampül)’nin kullanıldığı grupta travma grubuna göre hasar alanının daha küçük çapta olduğu, beyaz maddede bozulmuş aksonların daha az olduğu, yapısal bütünlüğün korunduğu nekroz ve apoptotik hücrelerin de az olduğu izlenirken travma grubunda ise hasar alanında yaygın ödem, inflamatuvar hücrelerinde artış,

beyaz maddede de vakuolize akson yapıları vardı. Mann Whitney-U istatistiksel değerlendirmesinde ise apoptotiz ve nekrozun grup 3 de grup 2 ye göre anlamlı olarak azaldığı izlendi ($p<0.05$).

Kruskal Wallis testi ile tüm gruplar arasında eğik düzlem ve motor fonksiyon skorlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup bu fark eğik düzlemde 10. günde ($p:0.001$; $p<0.05$) motor fonksiyon skorunda ise 5. ve10. günlerde daha da belirginleşmiştir ($p:0.00$; $p<0.01$). Grupların Mann-Whitney U ile ikili karşılaştırması değerlendirildiğinde ise eğik düzlemde 5.günden itibaren fark olup 10. günde istatistiksel olarak anlamlı bir farka ulaşmıştır ($p:0.012$; $p<0.05$), Motor fonksiyon skoru değerleri ise 5.günden itibaren anlamlı bir fark göstermiş nihayetinde 10. günde bu fark daha da artmıştır ($p:0.002$; $p<0.001$).

Sonuç: Deneysel rat omurilik yaralanma modeli çalışmamızda siklosporin – A nın sekonder omurilik yaralanması üzerine hem koruyucu (nöroprotektif)(nekroz /apoptozis verilerinin siklosporin-A verilen grub lehine), hem de tedavi edici (rejeneratif)(eğik düzlem ve motor skor verilerinin siklosporin-A verilen grub lehine) etkilerini, istatistiksel olarak ortaya koyduğumuzu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Laminektomi, rat, omurilik basısı, siklosporin A, travma

ABSTRACT

ASSESSMENT OF THERAPEUTIC AND PRESERVATIVE EFFECTS OF CYCLOSPORINE IN EXPERIMENTAL RAT SPINAL INJURY MODEL

Introduction: Spinal cord injuries still conserve their importance due to their serious socio-economic problematical results; and no consensual treatment algorithm has yet been concluded. They are assessed under two subtitles as primary and secondary injuries. Primary injury includes compressions, contusions and lacerations which have emerged during the trauma. The amount of damage at this stage is correlated to the magnitude, duration and the impact of energy absorbed. On the other hand, secondary injury is a process (which is) composed of metabolic and biochemical facts that arise during the very first minutes, those were triggered by the primary injury, and lasts for days after. Majority of the clinical and experimental trials about this issue is aimed at preventing the secondary injury.

Method: In this trial preservative and therapeutic effects of cyclosporine A in secondary injury condition; were studied -by the help of histopathological (Luxol fast blue, hematoxiline-eosinophil and TUNEL dying method) and damage scoring physical examination (inclined plane, motor examination) methods- over the spinal injury model, which was created with clip compression procedure. 18 Sprague Dawley breed mature female rats were exploited in this study. Following the anaesthesia, with a skin incision through the space between T7-T9 (thoracal vertebrae), paravertebral muscles were dissected; and three groups, 6 rats in each, were comprised: group 1 (the control group), group 2 (laminectomy + cord compression) and group 3 (laminectomy + cord compression + cyclosporine-A). Subjects were observed for 10 days and neurophysiological functions were recorded on days 1, 3, 5 and 10. All were sacrificed at day 10 for the histopathological examination.

Findings: In histopathological examination, it was shown that the trial group (which was) exposed to Cyclosporine-A (Sandimmune-Novartis IV vial) had a less area of damage -in diameters-, fewer number of degenerated white matter axons,

apoptotic cells and necrosis; and in contrast to the trauma group, the structural unity was preserved better whereas the trauma group had a wide edema on the injury site with an increase in the inflammatory cells and vacuolized axonal structures in the white matter.

Mann Whitney-U statistical analysis showed a significant diminution at group 3 in comparison to group 2 regarding apoptosis and necrosis ($p < 0.05$).

With Kruskal Wallis test, a significant statistical difference between all groups, in terms of motor function scores and inclined plane results, was seen; and this difference got prominence for inclined plane in day 10 ($p:0.001$; $p < 0.05$), in 5th and 10th days for the motor function scores ($p:0.00$; $p < 0.01$). When two groups were compared with Mann-Whitney U test, there was a distinction after day 5, in inclined plane, and this difference reached a statistical significance at the 10th day ($p:0.012$; $p < 0.05$). Values of motor function scores presented a significant difference by day 5 and at last the significance became bigger on day 10 ($p:0.002$; $p < 0.001$).

Results: In our study of experimental, rat spinal injury model; we are convinced that we are able to present both the preservative [neuroprotective, (necrosis/apoptosis data are in favour of the group received Cyclosporine-A)] and therapeutic effects [regenerative, (inclined plane and motor function score datum are in favour of the group received Cyclosporine-A)] of Cyclosporine-A on the secondary spinal injury, which is statistically significant.

Key words: Laminectomy, rat, spinal compression, cyclosporine A, trauma

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan hocalarım Prof. Dr. Nezih ÖZKAN'a, Prof. Dr: Rüçhan ERGÜN 'e, Doç. Dr. Ali Rıza GEZİCİ' ye, Yrd. Doç. Yaşar DAĞISTAN' a, Dr Ömer POLAT'a, Dr Veli ÇITIŞLI' ya ;

Tez yazımı boyunca desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Ali Rıza GEZİCİ' ye, tezimin histopatolojik incelemesindeki katkılarıyla Yrd. Doç. Tülin Fırat'a ;

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım Semih AKAR'a , Serkan ŞİMŞEK'e, Kutlu SARI'ya , Emre CANSAN'a ve hemşire Ümmühan YİĞİT'e ;

Sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr Güven KILIÇ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TABLolar DİZİNİ	x
RESİM VE ŞEKİLLER	xi
GRAFİKLER	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	1
2.1 Tarihçe	2
2.2 Omurilik Yaralanma Modelleri	2
2.2.1 Travmatik yaralanma	2
2.2.2 Travmatik olmayan yaralanma	3
2.3 Omurilik Yaralanmasının Değerlendirilmesi	5
2.3.1 Klinik muayene	5
2.3.2 Histopatolojik inceleme	5
2.3.3 Manyetik rezonans görüntüleme (MRG)	6
2.3.4 Akson izleyicileri	6
2.3.5 Biyokimyasal ölçümler	6
2.3.6 Omurilik kan akımının ölçülmesi	6
2.3.7 Elektrofizyolojisi	6
2.4 Nörolojik değerlendirme ve sınıflama	7
2.4.1 Nörolojik Muayene	7
2.5 İnkomplet Omurilik Yaralanmasında Ortaya Çıkan Bazı Sendromlar	10
2.5.1 Santral omurilik sendromu	10

2.5.2 Brown –Sequard sendromu	10
2.5.3 Anterior omurilik sendromu	10
2.5.4 Konus medullaris ve kauda ekuina sendromu	11
2.6 Spinal Kord Anatomisi	11
2.6.1 Spinal kordun vasküler anatomisi	16
2.7 Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi	19
2.7.1 Birincil hasar	19
2.7.2 İkincil hasar	20
2.8 Yaralanmış Omuriliğin Endojen Tamir ve Rejenerasyon Çabaları.....	25
2.9 Siklosporin.....	26
3.GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1 Gruplar:	27
3.2 Anestezi:	28
3.3 Cerrahi:	28
3.4. Klinik Nörolojik Muayene	30
3.4.1 Drummond ve Moore kriterleri ile değerlendirme:	30
3.4.2 Eğik düzlem ile değerlendirme:.....	30
3.5. Histopatolojik Değerlendirme	30
3.5.1 Işık mikroskopik değerlendirme:.....	31
3.5.2 İmmunhistokimyasal değerlendirme	35
3.6 İstatiksel Değerlendirme.....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1 Işık Mikroskopisi Görüntüleri	49
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
EKLER.....	

SİMGELER VE KISALTMALAR

T7: 7. Torakal Vertebra

L1: 1. Lomber vertebra

C6: 6. Servikal vertebra

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

SUP : Somatosensoriyal uyarılmış potansiyeller

MUP :Motor uyarılmış potansiyeller

ASIA SKALASI:American Spinal Injury Association

S4: 4. Sakral vertebra

VPL : Ventral postero lateral

Tr: Traktus

DTR: Derin tendon refleksi

ASA : Anterior spinal arter

PLSA: Posterolateral spinal arter

K⁺: Potasyum

MSS: Merkezi sinir sistemi

ATP: Adenozin trifosfat

Na⁺: Sodyum

Ca⁺: Kalsiyum

EAA: Eksitator amino asit

NMDA: N-metil-D-aspartat

CPP : 3-propyl-1-phosphonic acid

Fe⁺: Demir

TNF- α : Tümör nekrozis faktör-alfa

IL: İnterlökin

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling

DNA: Deoksiribonükleik asit

TdT: Terminal deoksinukleotidil transferaz

PBS : Fosfat tampon solüsyonunda

MMT : Mitokondri membran transportu

NTF: Nükleer transkripsiyon faktör

GM-CSF: Granülosit monosit-koloni stimüle faktör

SSS: Santral sinir sistemi

LFM: Luksol fast mavisi

NO:Nitröz oksit

mRNA: Messenger ribonükleik asit

CREB : Cyclic amp-response element binding protein


OPC: Oligodendrosit prekürsör hücre

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Duyu muayenesi için 28 anahtar noktanın tanımlanması	8
Tablo 2: Standart omurilik muayenesinde anahtar 10 kas grubu ve sinir kökleri.....	9
Tablo 3: Akut omurilik yaralanması fazları ve anahtar patolojik olaylar	25
Tablo 4: Drummond ve Moore kriterleri.....	30
Tablo 5: Kruskal- Wallis testi ile 3 grubun 1. Gün, 3. Gün, 5. Gün ve 10. Gün Eğik-Düzlem(Inclined Plane) Derecelerinin karşılaştırılması ($p < 0,05$)	40
Tablo 6: Kruskal- Wallis testi ile 3 grubun 1. Gün, 3. Gün, 5. Gün ve 10. Gün Motor Fonksiyon Skorlarının karşılaştırılması ($p < 0,05$)	43
Tablo 7: Gruplar arası ikili karşılaştırma (Mann- Whitney-U Testi)	44
Tablo 8 : Wilcoxon testi ile grup içi Eğik Düzlem verilerinin karşılaştırılması.	46
Tablo 9: Wilcoxon testi ile grup içi Motor-Skor verilerinin karşılaştırılması.....	47
Tablo 10: Hemotoksilen-Eozin boyama ile grublara göre nekroz sayıları	47
Tablo 11: Tunnel Boyama yöntemi ile Apoptotik hücre sayıları.....	48
Tablo 12: Tunel Boyama yöntemi ile Nekroz ve Apoptotik hücre sayıları ortalamaları.	48

RESİM VE ŞEKİLLER

Şekil 1: Dura ve araknoid membran, subaraknoid aralık, piamater, arka köklerin omurilikten çıkışı ve ligamentum dentikulom gösterilmiştir. (Interactive atlas of human anatomy, F. Netter MD)	12
Şekil 2: Spinal kordun sonlandığı kısım ve cauda equina	12
Şekil 3: Medulla spinaliste yer alan başlıca lif ve traktlar	16
Şekil 4 : Spinal kordun arteriel dolaşımını sağlayan radiküler arter, anterior spinal arter ve posterior spinal arterin kesiti (Interactive atlas of human anatomy, F. Netter MD).....	17
Şekil 5: Anterior spinal arter, posterior spinal arter ve radiküler arter arasındaki anastomoz (Interactive atlas of anatomy, F. Netter MD).....	18
Şekil 6: Spinal kordun venöz dolaşımı (Interactive atlas of human anatomy, F. Netter MD).....	18
Şekil 7: Venöz dolaşım: Biri dış diğeri iç iki pleksus tüm omurga boyunca uzanır, aralarında serbestçe anastomoz oluştururlar. (Interactive atlas of human anatomy, F. Netter MD).....	19
Resim 1: Laminektomi sonrası spinal kord görünümü.	29
Resim 2: Klip kompresyon ile spinal kord hasarı oluşturulması.	29
Resim 3 : Sham grubuna ait normal medulla spinalis kesiti. Luxol fast blue.	49
Resim 4: Sham grubuna ait görüntü. Hematoksilen&Eozin	49
Resim 5: Sham grubuna ait kesitte apoptotik hücreler (→). TUNEL yöntemi.....	50
Resim 6: Spinal kord hasarı yapılan gruba ait görüntü. Lezyon alanında doku bütünlüğü kaybı, ödem (▲)görülmemtedir. Beyaz maddede vakuolize akson yapıları göze çarpmaktadır. Luxol Fast Blue.....	50
Resim 7: Spinal kord hasarı yapılan gruba ait görüntü. Lezyon alanı-core area (▼) bölgesinde doku bütünlüğünün kaybı, ödem, inflamatuvar hücrelerin artışı görülmektedir. Hematoksilen&Eozin	51

- Resim 8:** Spinal kord hasarı oluşturulan grupta artmış apoptotik hücreler görülmektedir (→). TUNEL yöntemi..... 51
- Resim 9:** Spinal kord hasarı yapıp siklosporin verilen gruba ait görüntü. Myelinli aksonlarda belirgin vakuolizasyon (→) görülmektedir. Luxol Fast Blue. 52
- Resim 10 :** Spinal kord hasarı yapıp siklosporin verilen gruba ait görüntü. Lezyon alanı-core area () bölgesinin daha sınırlı olduğu görülmektedir. Hematoksilen&Eozin 52
- Resim 11:** Siklosporin verilen gruba ait kesitte apoptotik hücrelerin hasar grubuna göre daha az sayıda olduğu görülmektedir (→). TUNEL yöntemi. 53

GRAFİKLER

Grafik 1: Kruskal- Wallis testi ile 3 grubun 1. Gün, 3. Gün, 5. Gün ve 10. Gün Eğik-Düzlem derecelerinin karşılaştırılması	41
Grafik 2: Kruskal- Wallis testi ile 3 grubun 1. Gün, 3. Gün, 5. Gün ve 10. Gün Motor Fonksiyon Skorlarının karşılaştırılması ($p < 0,05$)	44
Grafik 3: Gruplar arası eğik düzlem karşılaştırma	45
Grafik 4: Gruplar arası motor skor karşılaştırma.....	45
Grafik 5: Gruplar arası nekroz ve apoptotik hücre sayısının karşılaştırılması	46

1.GİRİŞ

Omurilik yaralanması hastaların ömür boyu süren tedavi ve bakım masrafları, iş ve kazanç kayıpları beraberinde yaşadıkları sosyal ve psikolojik sorunlar nedeniyle hastayı, ailesini ve ülke ekonomisini etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Omurilik yaralanması ile ilgili çok sayıda araştırma olmasına rağmen henüz net bir tedavi bulunamamıştır (1,2). Yine omurilik çok sayıda siniri ve biyolojik sistemi kontrol ettiğindendir ki omurilik hasarında çok sayıda sistemde sorunlar ortaya çıkmaktadır (1,3). Bu konudaki araştırmalar bir taraftan olayın patofizyolojisine yönelik iken, diğer taraftan tedavi seçeneklerine yöneliktir.

Bu nedenle insandaki omurilik yaralanmasını andıran travmalar deney hayvanlarında oluşturulmaktadır (4). Omurilik hasarında tedaviye yönelik öne sürülen ajanların etki mekanizmaları genellikle ikincil hasarı önlemeye yöneliktir, fakat mekanik etki ile omurilikte meydana gelen birincil hasar adete ikincil hasar mekanizmalarının fitilini ateşlemekte buda omuriliğe ciddi hasarlar vermektedir (1).

Bizim bu çalışmadaki amacımız siklosporinin sekonder yaralanma üzerindeki koruyucu ve tedavi edici etkilerini belirlemektir.

2.GENEL BİLGİLER

Akut travmatik omurilik yaralanmasının dünyadaki yıllık görülme sıklığı milyonda 15-40 olarak verilmiştir (5). Kuzey Amerika da 2012 yılı verilerine göre, her yıl ortalama 10.000 yeni akut omurilik yaralanma olgusu, İngiltere’de ise 2004 yılı verilerine göre, yıllık 700 yeni akut omurilik yaralanma olgusu bildirilmektedir (6). Omurilik yaralanması sıklığı 15-25 yaş arası gençlerde görülür, Erkek/ Kadın oranı 4/1’dir (7). Omurilik yaralanmasının en sık sebebi motorlu araç kazaları (% 50), düşme ve iş kazaları (%30), şiddet suçları (%11) ve spor yaralanmalarıdır (%9) (8).

Ülkemizde yapılan sınırlı epidemiyolojik çalışmalar incelendiğinde Karamehmetoğlu ve ark. travmatik omurilik yaralanması sıklığını milyon popülasyonda İstanbul için %21, kırsal alan - güneydoğu illeri için %16.9 olarak

bildirmişlerdir (6,9). Karacan ve ark. 2000 yılında yayımlanan, çok merkezli, anketli, ulusal epidemiyolojik çalışmalarında bu oran yine milyon popülasyonda %12.7'dir (10).

Spinal kolonun en esnek yeri olan boyun en çok yaralanmaya maruz kalır ki bu da en ağır nörolojik hasara neden olur (11).

2.1 Tarihçe

Edwin Smith papirusları omurga kırıklarının belirtildiği ilk belgelerdir. Bu bilgilerin firavunların özel hekimi olan İmhotep (MÖ 2686-2613) tarafından yazıldığı sanılmaktadır (12) .

Ülkemizdeki spinal travmalar ile ilgili ilk tedavi işlemi, Şerefeddin Sabuncuoğlu (1385-1468) tarafından yapılmıştır. Sabuncuoğlu 15.yüzyılda yazdığı “Cerrahiyetül Haniye’ resimli cerrahi atlasında bir çok spinal patolojinin yanı sıra, spinal travmalar bu travmaların nörolojik etkileri ve dislokasyonlarda redüksiyon teknikleri hakkında bilgi vermiştir (13). Bu eserin Türkçe ilk eser olması dışında resimli olması sebebiyle de önemi büyüktür (14) .

2.2 Omurilik Yaralanma Modelleri

Tator tarafından sınıflandırılmıştır (15,16).

2.2.1 Travmatik yaralanma

2.2.1.1 Akut kinetik bası

2.2.1.1.1 Klip

2.2.1.1.2 Balon

2.2.1.1.3 Omurga Kırığı

2.2.1.1.4 Darbeli cihaz

2.2.1.1.5 Ağırlık oluşturma

2.2.1.2 Akut statik bası

2.2.1.3 Akselasyon- deselerasyon

2.2.1.4 Germe

2.2.1.5 Yatay düzlemde kesi

2.2.2 Travmatik olmayan yaralanma

2.2.2.1 İskemik hasar

2.2.2.2 Tümör basısı

2.2.2.3 Kimyasal hasar

2.2.2.4 Fiziksel hasar

2.2.1.1.1 Klip bası modeli

Rivlin ve Tator vasıtasıyla geliştirilmiştir (1978). Mekanik etkinin yanında vasküler yaralanma da yaparak iskemiye neden olur. Laminektomiye takiben lateralden konan anevrizma klipi ile omurilik bir müddet sıkıştırılır. Klip şiddeti ve zamanı değiştirilerek değişik yaralanmalar oluşturulabilir. Burada bası çevresel olduğu için insandaki travma tipine yakındır. Sadece küçük hayvanlarda uygulanılabilir (3).

2.2.1.1.2 Balon ile bası modeli

Oro ve ark. sıçanlarda laminektomi sonrası spinöze tutturulan bir balon ile bu yöntemi oluşturmuşlardır (17), Tarlov ve Klinger ise köpeklerde omurilik ve kauda equina yaralanması oluşturmak için ekstradural balon bası yöntemini kullanmışlardır (18,19).

2.2.1.1.3 Omurga kırığı modeli

Benzel 1999 'da tarif etmiştir. L1 seviyesinde lateral yaklaşımla vena cava ve abdominal aorta omurgadan ayrılır (20).

Debakey aort klempı, bir uzantısı omurganın anterioruna diğeri ise dorsalinde olacak şekilde yerleştirilir. 20 sn, 3 diş sıkıştırılır. Sıçanlarda arka bacakta spazm görülür. Klemp serbestleştirilir. Bu yöntemde bası şiddeti değişmez ancak farklı tür deneklerde değişik sonuçlar olabilir. Yine aynı türün omurga kalınlıklarındaki farklılıklar sonucu etkileyebilir (21,22,23).

2.2.1.1.4 Darbeli cihaz modeli

Anderson tarafından geliştirilmiştir (1982) (24). C6-C7 spinzler klemple sabitlenir. Laminektomi uygulanmadan interlaminer kısımdan omurilik yaralanması oluşturulur. Pnömatik bir silindirden itilen şaft bir çerçeveye çarpar ve ayarlanabilir bir süre boyunca orda kalır. Olayın zamanı ve hızı sabittir. 1992 ‘de Stokes ve ark. Elektromekanik bir cihaz geliştirmişlerdir (25,26). Burada omuriliğe çarpan şaftın yer değiştirme miktarı, hızı ve şafta verilen kuvvet ölçülerek bilgisayara aktarılmakta neticede her travmadan sonra omuriliğin ne kadar etkilendiği tespit edilmektedir (4).

2.2.1.1.5 Ağırlık düşürme modeli

Allen 1911’de kedi omuriliğine ağırlık düşürmüştür. evre dokularına enerji dağılımını cismin bir çok yerden omuriliğe çarpması omuriliğin farklı kalınlıklarda, kan akımı ve BOS dolanımına sahip olması dezavantajdır (27). Tüm bunlara rağmen bu model en yaygın kullanılan, nispeten tüm deneklerde değişmez yaralanma yaratan kolay bir yöntemdir. Ağırlık düşürme modeli klinik modellere daha uygundur. Klip ve Balon modellerinde mekanik travmanın dışında vasküler yaralanmada mevcuttur (3).

2.2.1.5 Yatay düzlemde kesi

Bu yöntemde bisturi veya lazer kullanarak omurilik yatay düzlemde tam kesilir. Omuriliğin rejenerasyonunu araştırmak için uygundur. Lazer kullanılarak yapılan omurilik kesilerinde daha iyi damarlanma görülmektedir. Yine burada cerrahi travma sabittir. Tam kesi nadiren ortaya çıkar. Ancak omurilik yaralanması ile ilgili ciddi bilgiler vermesi sebebiyle önemlidir. Cheng ve ark. omuriliğin bir kısmını çıkarıp periferik sinir grefti ile destek için fibrin yapıştırıcı, asidik fibroblast

büyüme faktörleri ile tamir yoluna gitmişler sonuçta rejenerasyon olduğunu göstermişlerdir (28,29).

Schwab ve ark. kortikospinal traktusda piramis seviyesinde mikrocerrahi yöntemi kullanarak daha seçici lezyon meydana getirmişleridir (30). Bu özel kesi modellerinin en önemli problemi hedeflenen traktusların kesilmeme olasılığıdır (4).

2.2.2.1 İskemik hasar modeli

Ratlarda sol renal arterin hemen distalinde aortun kapatılmasıyla iskemi oluşturulur (31).

2.2.2.4 Fiziksel hasar modeli

Sakamoto ve ark. 2 Mhz radyofrekans ısıtıcı çemberi sıçanlarda T12-L1 vertebraların üzerine koymuşlardır. Proksimal segmentte yapılan laminektomi penceresinden de epidural sıcaklığı monitörize etmişlerdir. Sıcaklık 45-48,5 °C ile 4-10 dk arasında değişen sürelerde yapılmıştır. Travma sonrası sıçanlarda omurilik vasküler kan akımında düşme, histolojik zedelenme ve nörolojik kötüleşmeye ait bulguların ortaya çıktığı bildirilmiştir (32).

2.3 Omurilik Yaralanmasının Değerlendirilmesi

2.3.1 Klinik muayene

2.3.1.1 Tarlov testi: Tarlov, sıçan motor işlevini 6' ya ayırarak özel muayeneyi ölçülebilir hale getirdi. Plejik sıçana 0, motor fonksiyonu tam olana ise 5 puan verdi (18,19). Stokes ve Reier bu testi yeniden düzenlediler (25). Ayrıca Drummond ve Moore kriterleri ile değerlendirilebilir.

2.3.1.2 Eğimli yüzey testi

2.3.2 Histopatolojik inceleme

Histopatolojik incelemede nekroz ve nöronlardaki değişiklikler nicel hale getirilebilir. Burada rutin yöntemlerin yanı sıra miyelindeki değişiklikleri ortaya

koymak için LFM (Luksol fast mavisi) ve NO (Nitröz oksit) İmmün histokimyasal yöntemlerinden de yararlanır (15).

2.3.3 Manyetik rezonans görüntüleme (MRG)

İlk patolojik değişikliklerin ortaya konmasında etkilidir. Omurga kanalını ve yumuşak dokuların değerlendirilmesinde travmanın omuriliğe vertebral disk ile ligamenlere etkisini ortaya koymada en faydalı yöntemdir. Yine omurilikte kanama, ödem ve kesi yalnızca MRG ile görülebilir. Akut hematomiyeli T2A kesitlerinde hipointens, T1A kesitlerinde hipo-izointens izlenir. Hematom emildikçe T2A kesitlerinde methemoglobin nedeniyle hiperintens en son dönemde ise hemosiderin ve ferritin nedeniyle hipointens görünümü olur. Kontüzyonda ise T2A kesitlerde hiperintens, T1A kesitlerinde hipointens sinyaller izlenir (4,33).

2.3.4 Akson izleyicileri

Travmanın ve terapötik etkinin olumlu veya olumsuz yönlerini ortaya koymada kullanılır. Horseradish peroksidaz yöntemi en sık kullanılanıdır (34).

2.3.5 Biyokimyasal ölçümler

Kalsiyumun hücreye girmesiyle sitotoksik zincir başlar. Kalsiyumun ölçümü mümkündür. Yine mikrodializ yöntemi ile invivo laktat, piruvat, aspartat, glutamatın da ölçümü yapılmaktadır. Lipit peroksidasyonunun son ürünlerinin nicel ölçümü ile antioksidan enzim (katalaz – süperoksit dismutaz) düzeylerine bakılabilmektedir (34).

2.3.6 Omurilik kan akımının ölçülmesi

Omurilik travmalarından sonra kan akımında önemli bir düşme meydana gelir ve bir iki saat sonra ise omurilikte travmaya bağlı iskemi gelişir (15,28).

2.3.7 Elektrofizyolojisi

2.3.7.1 SUP (somatosensoriyal uyarılmış potansiyeller)

Omurilik travmasının şiddetini belirlemede önemli bir yöntem haline gelmiştir. SUP omurilik travması esnasında dorsal kolondaki aksonlar üzerindeki stresin ortaya konmasını sağlar. Sonuçta travmanın sonrasında gelişecek iskemi tahmin etmede SUP ölçümleri yararlı bir yöntemdir (35).

2.3.7.2 MUP (motor uyarılmış potansiyeller)

Piramidal yolların takibini olanaklı kıldığı için SUP'a göre motor işlevin düzenlenmesini tahmin etmede daha önemlidir (21).

2.4 Nörolojik değerlendirme ve sınıflama

Omurilik, beyaz cevherde boylu boyunca uzanan traktuslar ile bu oluşumların çevresini sardığı sinir hücrelerinden oluşan gri cevherden meydana gelmektedir. Gri cevher segmental olarak gruplara ayrılmıştır. İki spinal arka kök ve iki spinal ön kök veren her bir omurilik kısmı segment olarak nitelendirilir. Bütün sinir kökleri dermatom olarak adlandırılan belirli bir bölgenin duyusunu taşıırken aynı şekilde her kök miyotom adı verilen bir kas grubunu inerve eder.

Omurilik yaralanmasında, travmanın tespiti, fonksiyon bozukluğunun derecesi, düzeyi ve iyileşme miktarının boyutu gibi birçok sebepten dolayı standart bir sınıflama yapılması gerekliliği söz konusudur. Bu sınıflandırmada nörolojik muayene esastır. Bu sınıflamayı açıklamadan önce kullandığımız bazı terimler ve açıklamalar şunlardır (36):

Motor seviye: Kendisinden yukarıdaki anahtar kasların motor gücünün normal olarak değerlendirildiği, en alt anahtar kas için ise motor kuvvetin 3/5 değerinde olduğu düzeydir.

Duyusal seviye: Vücudun her iki tarafındaki dokunma duyularının normal olduğu en alt düzeyi temsil eder.

Nörolojik seviye: Motor ve duysal işlevlerin normal olduğu en alt düzeyi temsil eder.

2.4.1 Nörolojik Muayene

Nörolojik muayene için gerekli olan iki temel unsur vardır.

2.4.1.1 Duyusal muayene

Duyusal muayene vücudun her iki yanında yer alan 28 dermatom alanının iğne ucuyla ve pamuk kullanarak (keskin duyu-hafif dokunma) muayene edilmesidir. Bu üçlemde referans nokta yüzdür. Hastanın his durumuna göre 3 puanlı değerlendirme yapılır.

0: Duyu yok

1: Bozulmuş

2: Normal

Derin rektal duyu tuşe ile değerlendirilir. Pozisyon hissi, derin duyu- basınç duyusu nispeten rehabilitasyon ve tedavi süresince kullanılır.

Tablo 1: Duyu muayenesi için 28 anahtar noktanın tanımlanması

Orta Klavikular Hat		
C2-oksipital protuberans	T4-4.interkossal aralık	L2-ön orta uyluk
C3-supraklavikular fossa	T5-5.interkossal aralık	L3-m Femoral kondil
C4-akromioklavikular eklem üssü	T6-6. interkossal aralık	L4-medial malleolus
C5-antekubital fossa laterali	T7-7. interkossal aralık	L5-bacağın laterali
C6-başparmak	T8-8. interkossal aralık	S1-topuk laterali
C7-orta parmak	T9-9. interkossal aralık	S2-orta popliteal fossa
C8-küçük parmak	T10-10. interkossal aralık	S3-ishkial tuberozite
T1-antekübital fossa mediali	T11-11. interkossal aralık	S4-5-perianal alan
T2-aksilla apeksi	T12- inguinal lig. Ortası	
T3-3.interkossal aralık	L1-T12/L2 tam arası	

2.4.1.2 Motor muayene

Bu muayenede çift taraflı on anahtar kas kuvveti değerlendirilmektedir. Motor muayene derecelendirmesinde kullanılan skala:

0: Felç

1: Kasta gözlenen veya palpe edilen kontraksiyon

2: Yer çekimi devre dışı bırakıldığında kasın hareket etmesi

3: Yer çekimine karşı hareketin olması

4: Drence karşı hareket olması

5: Normal kas gücü

Yine anal kontraksiyon tuşe ile kontrol edilir. Anal duyu gibi var veya yok olarak tanımlanır.

C1'den C4, T2'den L1 ile S2'den S5'e kadar motor muayene test edilemez. Bu bölgeler duyu seviyeleri ile eş olarak kabul edilir. Motor muayeneye ilave olarak bazı kas grupları da değerlendirilebilir. Bunlar; diyafram, deltoid kasları, harmstring kas grubu ile kalça addüktörleridir. Bu kaslarda değerlendirme yok, güçsüz ve normal olarak tanımlanır (36-38).

Tablo 2: Standart omurilik muayenesinde anahtar 10 kas grubu ve sinir kökleri

Kök seviyesi	Kas grubu	Kök seviyesi	Kas grubu
C5	Dirsek fleksörleri	L2	Kalça fleksörleri
C6	Bilek ekstansörleri	L3	Diz ekstansörleri
C7	Dirsek ekstansörleri	L4	Ayak dorsifleksiyon
C8	Uzun parmak fleksörleri	L5	B.parmak ekstansiyon
T1	Kısa parmak abdüktörleri	S1	Plantar fleksiyon

ASIA SKALASI (American Spinal Injury Association) (36)

A=KOMPLET: S4-S5 segmentlerinde motor ve duyuşsal fonksiyon kaybolmuştur.

B=İNKOMPLET: Nörolojik seviyenin altında motor fonksiyon tamamıyla kaybolmuş S4-S5 sakral segmentlerde duyu fonksiyonu korunmuştur.

C=İNKOMPLET: Nörolojik seviyenin altında motor fonksiyon korunarak anahtar kasların yarısından fazlasında kas gücü 3'ün altındadır.

D=İNKOMPLET: Nörolojik seviyenin altında motor fonksiyon korunmuş ve kas gücü 3'ün üzerindedir.

E=KOMPLET: Normal motor ve duyu fonksiyonu vardır.

2.5 İnkomplesit Omurilik Yaralanmasında Ortaya Çıkan Bazı Sendromlar

2.5.1 Santral omurilik sendromu

Omuriliğın ortasında birkaç ya da daha çok segmentin hasara uğramasıdır. Daha çok boyun bölgesindeki dejeneratif temelde hiperekstansiyon yaralanmalarıyla oluşur. Üst tarafta belirgin motor kayıp ile beraber sakral korunma mevcuttur. Mesane disfonksiyonu olabilir.

2.5.2 Brown –Sequard sendromu

Omuriliğın bir tarafında bir ya da daha çok segmentin hasara uğramasıdır. Travma seviyesi altında vibrasyon, pozisyon, duyu kaybı ile üst motor nöron tutulumu nedeniyle güçsüzlük görülür. Diğer tarafta ise birkaç segment altında ağrı ve ısı –duyu kaybı görülür.

2.5.3 Anterior omurilik sendromu

Ön 2/3 kısmı etkileyen lezyonlar neticesinde hafif dokunma, derin duyu korunurken motor ve ağrı kaybı oluşur.

2.5.4 Konus medullaris ve kauda ekuina sendromu

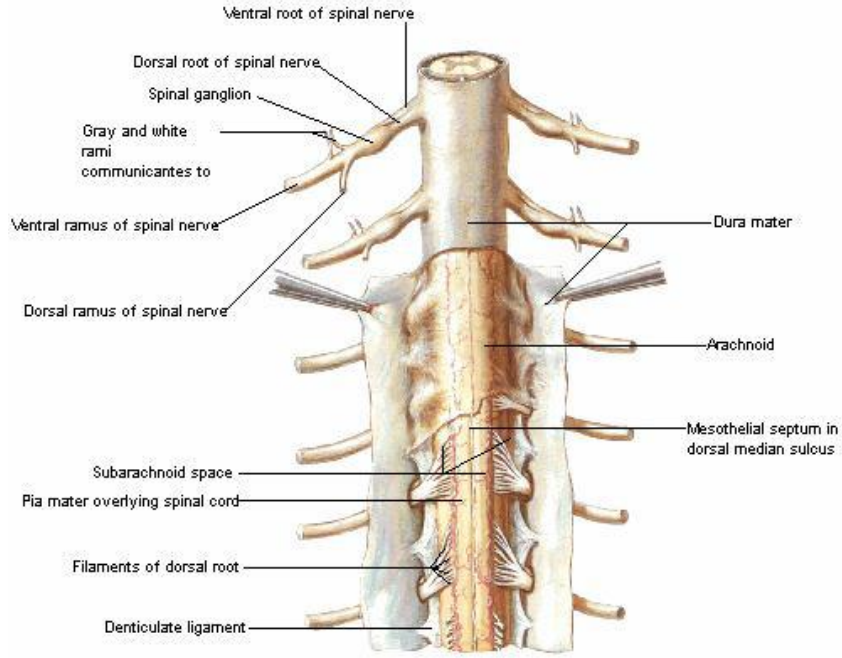
Konus medullaris harabiyeti neticesinde perianal ve uyluk kısmında eğer tarzı duyu kaybı ile beraberinde genito üriner bozukluklar izlenir. Eğer hasar kauda ekuina liflerini etkilerse radiküler tutulma neticesinde ağrı, kaslarda güçsüzlük, duyu kayıpları ortaya çıkmaktadır (37,39).

2.6 Spinal Kord Anatomisi

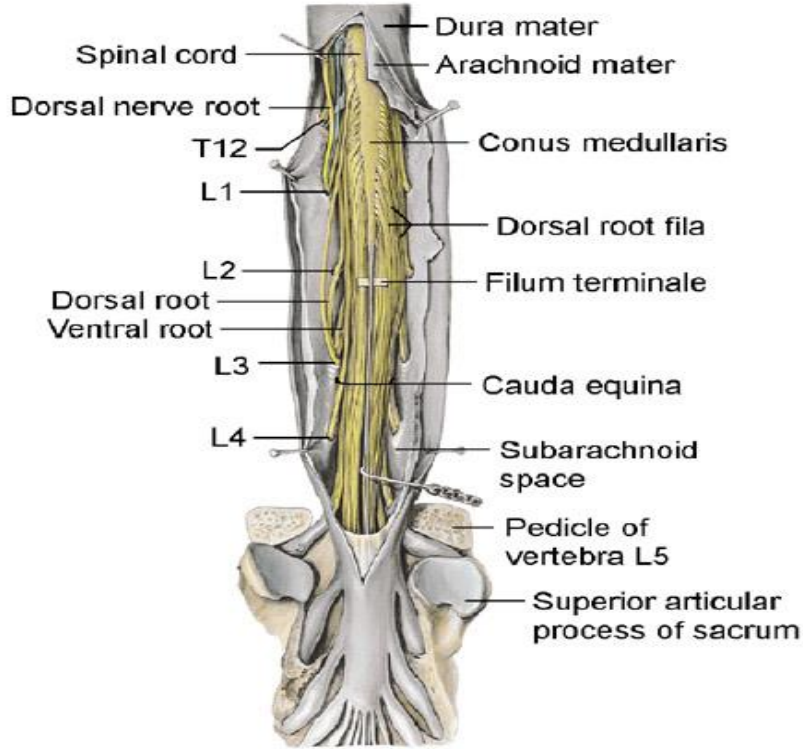
Yaklaşık olarak spinal kordun uzunluğu 40-45 cm, ağırlığı ise 30-35 gr'dır. İntrauterin hayatın ilk trimestirine kadar tüm kanalis vertebralis, sonraki süreçte ise kanalis vertebralisin hızlı büyümesi sebebiyle proksimal 2/3'ünü kapsar (40).

En aşağıdaki bölümü erişkinde L1-L2 vertebra seviyesinde konus medullaris olarak sonlanırken yeni doğanda ise üçüncü lumbal vertebrada sonlanır. Bu noktadan sonra ince bir flaman şeklinde filum terminale coccyx'in proksimaline yapışır (41-43).

Spinal kordun en üstteki zarı duramater olup foramene kadar kökleri sararken epidural alanda yağ ve venler vardır. Ortada araknoid içte ise piamater vardır. Dura ve araknoid S2 seviyesine kadar uzanır (44). Piamater korda septalar duraya ise ince bir bant olan ligamentum dentikulatımlar ile bağlıdır (41). Spinal kord C4-T1 (intumescentia cervicalis) ve T9-L1 (intumescentia lumbalis) bölgelerinde genişleme gösterir. İntumescentia cervicalisten brakial pleksusu oluşturan lifler, intumescentia lumbalisden ise lomber (L1-L4) ile sakral (L4-S2) pleksusu oluşturan sinirler çıkar (Şekil 1, Şekil 2) (41,42).



Şekil 1: Dura ve araknoid membran, subaraknoid aralık, piamater, arka köklerin omurilikten çıkışı ve ligamentum dentikulum gösterilmiştir. (Interactive atlas of human anatomy, F. Netter MD) (41)



Şekil 2: Spinal kordun sonlandığı kısım ve cauda equina (41)

Omurilikten çıkan 31 çift simetrik spinal sinir mevcuttur (8 servikal, 12 torasik, 5 lomber, 5 sakral ve 1 koksigeal) (45).

Birinci servikal ve koksigeal spinal sinirlerin dermatomları, arka kökleri olmadığı için yoktur. Üst servikal bölgede spinal sinirlerin çıkışı hemen hemen transverstir. Fakat C7 segmentleri kemiğe göre iki seviye üsttedir. Aşağı torakal ile yukarı lomber bölgede ise spinal kord segmentleri ve kemik seviye arasında üç segment vardır. Dolayısıyla spinal sinirler kendi foramenlerinde geçmek için aşağıya yönelirler. Bu aşağı yönelen yapı kauda equina adını alır.

Spinal kord gri ve beyaz cevherden oluşur. Ortadaki gri bölgede hücre gövdeleri, aksonlar, nöroglia ve kan damarları vardır. Beyaz cevherde ise myelinli sinir lifleri, nöroglia ve kan damarları bulunur. Periferden gelen uyarıların hepsi üst servikal bölgeden geçtiği için beyaz cevher spinal kordun üst kısmında artar. Gri cevher ise uyarılacak kas kitleleri ile orantılıdır. Kordun anteriorunda fissura mediana anterior, posteriorunda sulkus mediana posterior, fissura mediana anteriorun her iki yanında sulkus anterolateralis ile sulkus mediana posteriorun her iki yanında ise sulkus posterolateralisler yer alır. Yine sulkus posterolateralisler ile sulkus mediana posterior arasında sulkus intermedius posterior vardır. Sulkus intermedius fasciculus gracilis ve cuneatusu birbirinden ayırır. Arka kökler (duyu lifleri) sulkus posterolateralisten girerken ön kökler (motor lifler) ise sulkus anterolateralisten çıkar (46).

Gri cevher cornu anterior, cornu posterior ile T1'den L2 veya L3 ' e kadar olan alanda bulunan cornu lateralisten oluşur. Ortada santral kanal yer alır. Kanalis santralis ependimal hücrelerce sarılı olup önündeki gri alan bandına grisea anterior, arkadakine ise grisea posterior denir (47). Santral kanal aşağıda konus medullariste ventrikülus terminalis olarak genişleyerek filum terminale kökü şeklinde sonlanır. Gri cevher cornu posteriordan anteriora uzanan romen rakamı ile adlandırılan 9 laminasyon alanı içerir. Kanalis santralisinin saran lamina alanı X. bölgedir. Beyaz cevher anterior, lateral ve posterior olarak üçe ayrılır. Öndeki alan her iki orta hat ile önden çıkan sinir kökü arasında, yandaki alan önden çıkan sinir kökü ile arkadan

giren sinir kökü arasında, arkadaki alan ise arka sinir kökü girişi ile orta hat arasında yer alır (48).

Beyaz cevherde üç tip yol vardır(Şekil 3) ;

1. İntersegmental yollar (refleks mekanizmasında önemli)
2. Çıkan yollar (afferent)

- Funiculus posteriorda çıkan yollar (proprioseptif duyular, vibrasyon, iki nokta duyarlılık dokunma ve basınç duyuları) Fasciculus gracilis T6 seviyesinin altından fasciculus cuneatus ise T6 seviyesinin üstünden gelenleri taşır. Aynı tarafta yükselerek decussatio lemniscorumda çapraz yapar ve talamus VPL (ventral postero lateral) nükleus ile postsantral girusa varır (49).

- Funiculus anteriorda çıkan yollar

a. Tr. spinotalamicus anterior: Hafif dokunma – basınç duyusunu taşır. Medulla spinalise arka spinal kökten gelen duyular komissura alba anteriorda decussatio yaparak yukarı çıkar. Mezensefalonda iki bölüme ayrılır. Büyük olanı yani lateral parçası posterior ve ventral posterolateral çekirdeğinde, medial kısmı ise aqueductus mezensefali çevresindeki deri alan ile talamusun intralaminar çekirdeğinde sonlanır. Daha sonra postsinaptik lifler kapsüla interna ve de corona radiata vasıtasıyla duyu korteksine taşınır.

b. Tr. spinotectalis: İstem dışı baş, boyun ve göz hareketlerini sağlar.

c. Tr. spino-olivarius posterior: N.olivarius bitiş yeridir.

d. Tr. spino-olivarius anterior: Serebellum bitiş yeridir.

e. Tr. spinoretikularis: Retikular çekirdekte sonlanır. Davranış bilinç ve kortikal aktiviteyle alakalıdır.

- Funiculus lateraliste çıkan yollar

a. Tr. spinothalamicus lateralis: Ağrı ve ısıyı taşır. Ağrı uyarıları önde ısı uyarıları arkada yer alır. Arka kökten gele uyarılar komissura alba anteriorda girdiği seviye veya bir alt ile üst seviyede çaprazlaşarak duyu korteksine ulaşır.

b. Tr. spinocerebellaris posterior: Golgi organından, dokunma ve basınç reseptörlerinden aldığı bilinçsiz proprioseptif duyuları serebelluma taşır, çapraz yapmaz. Posteriorun ince koordinasyonu ve hareketle ilgisi yoktur.

c. Tr. spinocerebellaris anterior: Tr. spinocerebellaris posterior ile aynı uyarıları taşır. Ancak komissura alba anteriorda ve pedinkulus serebellaris superiorda olmak üzere iki çapraz yapar.

d. Tr. cuneocerebellaris

3. İnen Yollar (piramidal, efferent yollar)

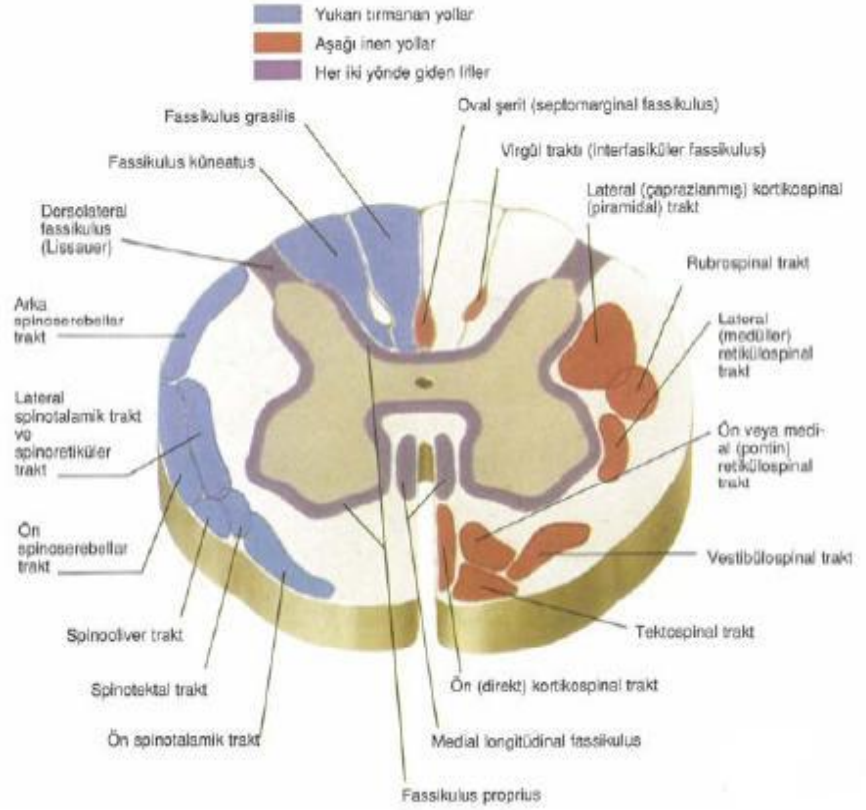
a.Tr. corticospinalis: Liflerin %30'u primer motor bölgeden, %30'u premotor bölgeden, %40'ı ise duyu korteksinden oluşur. Bu lifler corona radiatayı oluşturur. İnternal kapsülün posterior bacağından geçerek serebruma ulaşarak ponsta eminensia piramidalisleri vede medulla oblangata da piramitleri meydana getirir. 3. 6. ve 12. kranial sinirle ilişkilidirler. Çapraz yapanlar decussatio pyramiderum olarak isimlendirilir ve Tr. cortikospinalis lateralisi oluştururken diğerleri ise Tr. cortikospinalis anterior olarak isimlendirilir. Bu yolun herhangi bir düzeydeki lezyonu paralizi ile sonuçlanırken, kas tonusu kaybı, tonus artışı, DTR (Derin tendon refleksi) 'lerde hiperaktivite, abdominal ve kremastrik refleks kaybı ile babinski pozitifliği görülür.

b. Tr. tectospinalis: C1-C4 'te sonlanır. Görme ve işitmeye bağlı postür refleksini sağlar.

c. Tr. rubrospinalis

d. Tr. vestibulospinalis: Ekstansor kasları uyandır.

e. Tr. fastigiospinalis (49,50)

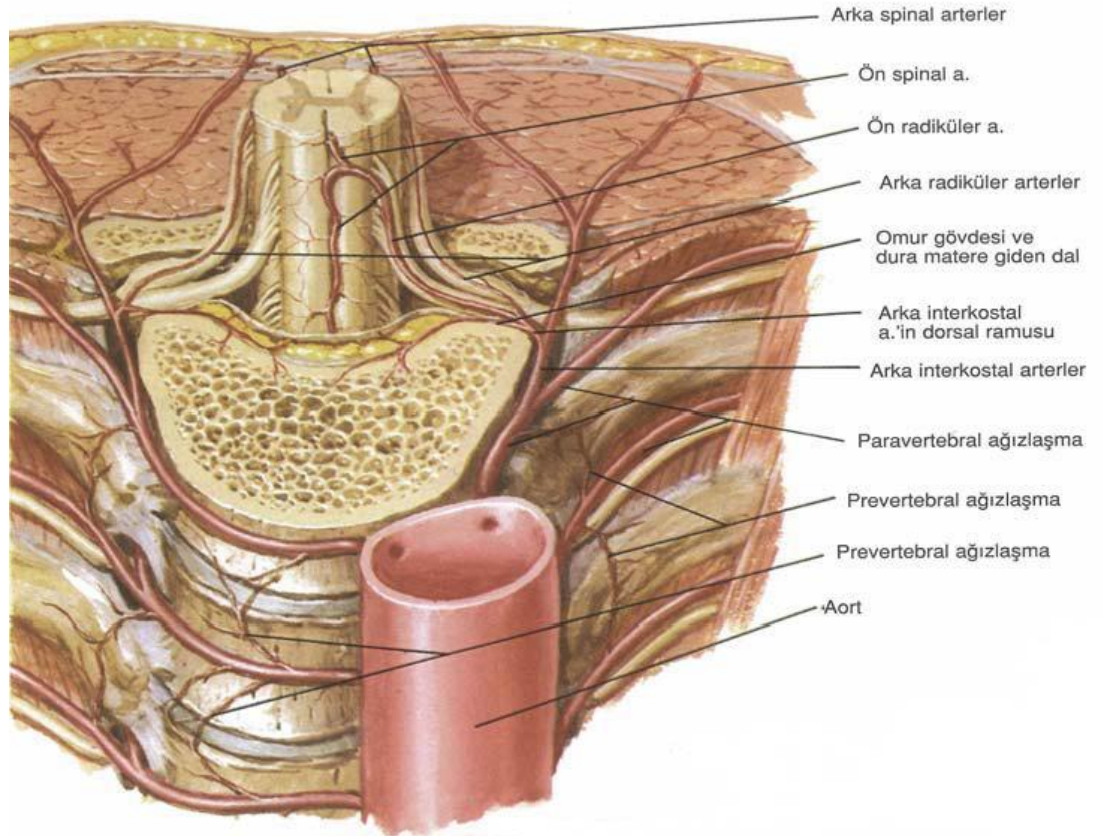


Şekil 3: Medulla spinaliste yer alan başlıca lif ve traktlar (45).

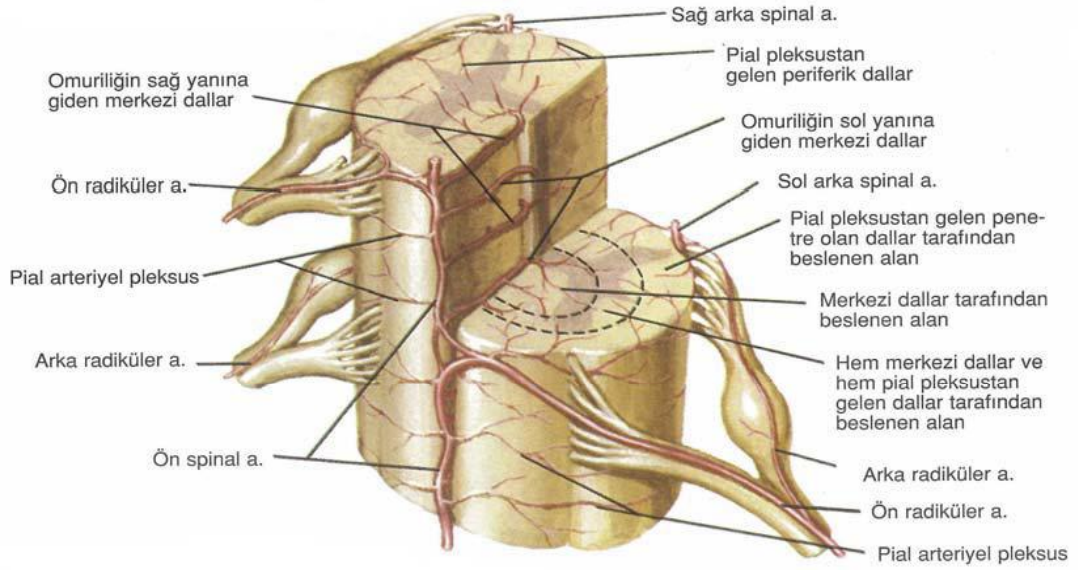
2.6.1 Spinal kordun vasküler anatomisi

Spinal kordda bir tane anterior spinal arter (ASA) ve iki tane posterolateral spinal arter (PLSA) bulunmaktadır. Bunlar üst bölgede vertebral arterden kaynaklanırlar. Sayıları tahmin edilemeyen anastomotik kanallarla birbirleriyle ilişkilidirler. ASA daha çok devamlılık gösteren bir yapı iken PLSA ise daha çok pleksus şeklindedir. Yine aorta ve dallarından çıkan sayıları 25-30 çift arasında olan ASA ile anastomoz yapabilen anterior ve posteriora ayrılan segmental damarlar vardır. Anterior dalı interkostal arter adını alır. Posterior segmental dal ise posterior ile anterior radiküler arterlere ayrılır. Spinal arterlere ulaşır. Anterior radiküler arter ASA ile birleşir. Yine segmental arterlerin bazıları direkt olarak spinal korda ulaşmaktadır. Spinal kord alt torasik ve lomber bölgede (T8-L5) 3-5 adet anterior radiküler arterden beslenir. Bunlardan biri en büyüktür ve Adamkiewicz olarak adlandırılır. %90' nı T8-L3 düzeyinden ve genelde soldan çıkar (51).

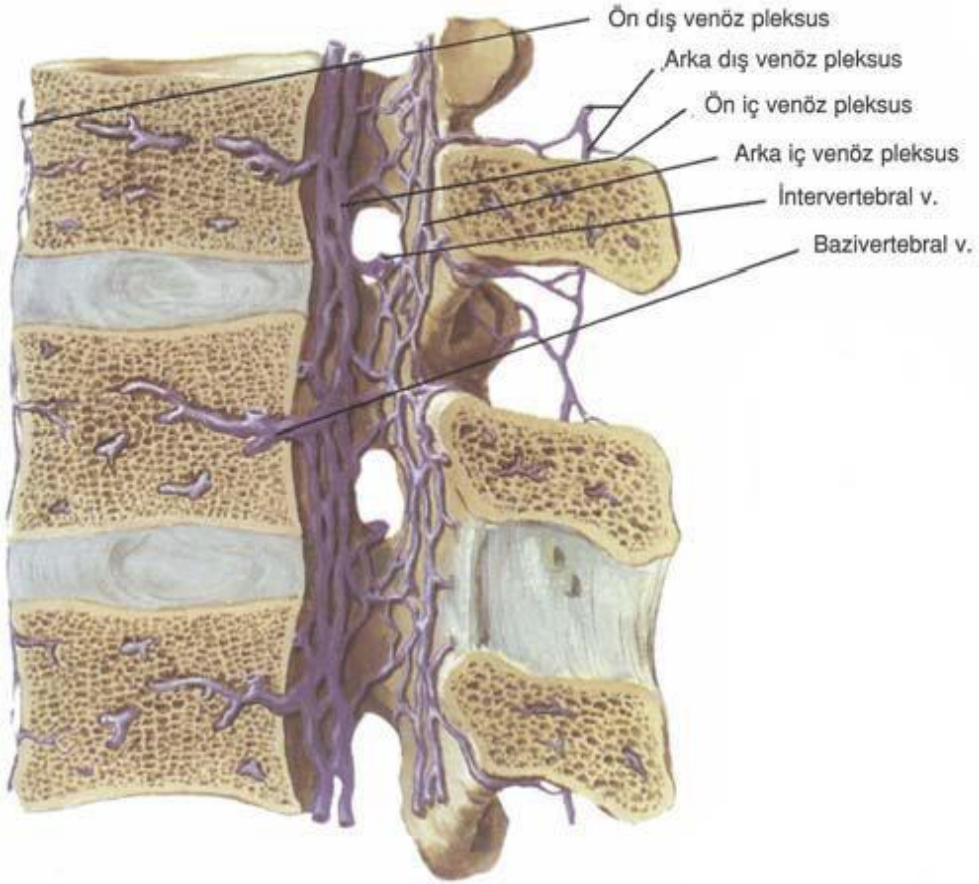
Spinal kord longitudinal, radiküler ve intervertebral venler ile drene olur. Üst uçta longitudinal venler internal juguler ve vertebral ven ile vena cava superiora boşalırken, intervertebral venler ise internal ve eksternal vertebral venöz pleksusa ordanda azigos ile vena cavalara dökülürler (Şekli 4, Şekil 5, Şekil 6, Şekil 7)(52,53).



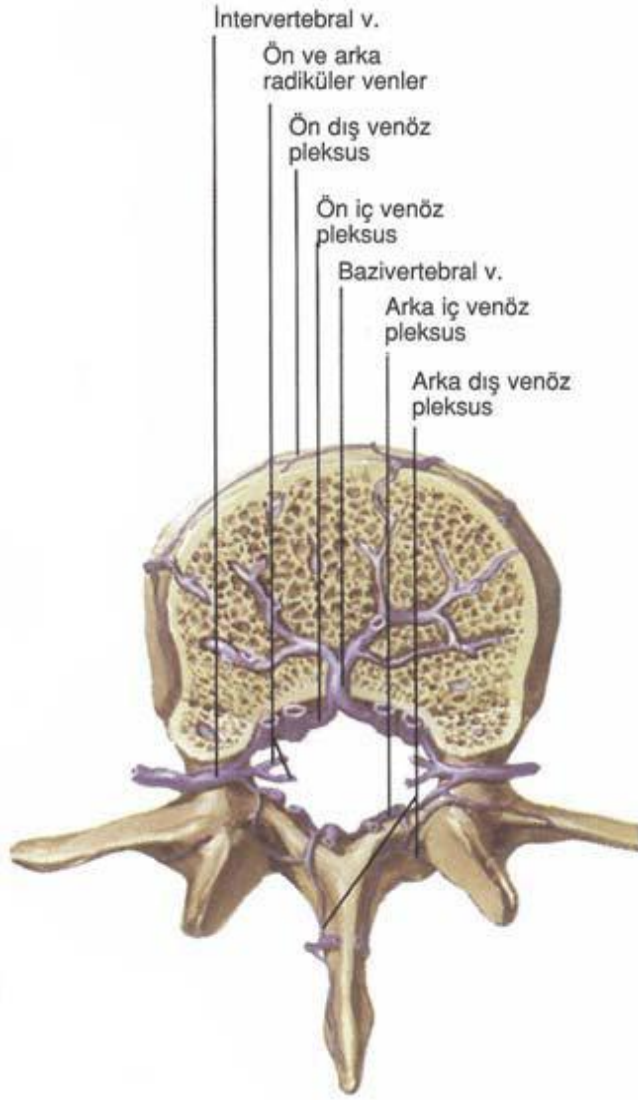
Şekil 4 : Spinal kordun arteriel dolaşımını sağlayan radiküler arter, anterior spinal arter ve posterior spinal arterin kesiti (Interactive atlas of human anatomy, F. Netter MD(52-53)



Şekil 5: Anterior spinal arter, posterior spinal arter ve radiküler arter arasındaki anastomoz (Interactive atlas of anatomy, F. Netter MD)(52,53)



Şekil 6: Spinal kordun venöz dolaşımı (Interactive atlas of human anatomy, F. Netter MD)(52,53)



Şekil 7: Venöz dolaşım: Biri dış diğeri iç iki pleksus tüm omurga boyunca uzanır, aralarında serbestçe anastomoz oluştururlar. (Interactive atlas of human anatomy, F. Netter MD)(52,53)

2.7 Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi

2.7.1 Birincil hasar

Omurilik yaralanması en iyi birincil ve ikincil yaralanma olarak sınıflandırılır. Birincil yaralanma, omuriliğin kendisini ve çevresindeki vertebral kolonu kapsayabilir. En çok kompresyon-kontüzyon şeklinde görülür. Hasarın şiddeti biomekanik etkenlere bağlıdır. Fleksiyon, rotasyon, ekstansiyon ve dislokasyonla ilgili distraksiyonel kuvvetlerinin tümü omuriliğin vasküler yapılarında veya sinirlerinde tahribata yol açarlar. Ayrıca kemik yapılar, ligamanlar ve kanaldaki

hematomda mekanik bası yapabilir. Bunlar sadece o anda değil, kalıcı hasar ile kronik olarak da omuriliğe zarar verirler. Hasarın boyutu travmanın meydana geldiği seviyedeki kanalın genişliğine de bağlıdır. Geniş kanallar travmayı iyi tolere ederken, dar kanallarda bu söz konusu değildir. Yine kauda ekuina motor nöronları travmaya dirençlidirler buda travmalarında daha iyi bir prognoza sahip olmalarını sağlar (54). Primer yaralanmada genelde travma bölgesinde sağlam aksonlar mevcuttur (55-59). Bu sağlam aksonlar tedavideki amacımızdır. Hayvan deneylerinde ki çalışmalar bu nöron topluluğunun %5 civarında olduğunu göstermiştir (60,61).

2.7.2 İkincil hasar

Primer hasarlanmanın başlattığı süreç ikincil hasarlanma ile devam eder.

2.7.2.1 Yaralanmadan hemen sonraki faz (0-2 saat)

Omurilik yaralanmasında birincil fazı tanımlar. Aksonların zarar görmesi söz konusudur (62). Travmadan sonraki ilk değişiklik omuriliğin şişmesidir. Gri maddedeki hemoroji ile hücre membranları mekanik olarak yırtıldığı gibi iskemi nedeniyle de nekrotik hücre ölümü olur. Yine beyaz cevherde mikrovasküler yapılarıdaki tahribat nedeniyle peteşial kanamalar vardır. Gerek hemoroji gerekse şişme omurilikte iskemi yapar. Bu da birkaç segment boyunca aşağı ve yukarı seyrederek (61,63). Yine bu dönemde mikroglial hücreler aktive olmuş ve proinflatuar stokinler dakikalar içinde salınmıştır (64). Yaralanmadan hemen sonra glutamat da ortaya çıkar (65,66).

2.7.2.2 Erken akut faz (2-48 saat)

Bu dönemde subpial bölgede kalan aksonlarda ileti bozulur (Reflaktör period uzar, yüksek frekanslı ileti bozulur. Aktivasyon eşiği yükselir, ısı bağımlı ileti bloğu oluşur ve ileti hızı azalır). Paranodal ya da internodal bölgelerde potasyum (K⁺) kanalları mevcuttur. Travma sonrasında miyelin hasarıyla hızlı potasyum kanallarının aktivitesi artar, membran potansiyeli potasyum denge potansiyeline yaklaştığında aksonal ileti bloğu oluşur. 4-aminopiridin bu K⁺ kanallarını bloke ederek orta derecede fonksiyonel iyileşmeyi kronik omurilik yaralanmalarında aksonal iletiyi arttırarak sağlar (57,58,67). MSS (Merkezi sinir sistemi) beyaz cevher

yaralanmasındaki anoksi ATP (Adenozin trifosfat) ve membran depolarizasyonun kaybına yol açar. Sodyum (Na^{++}) hücre içine akar. Hücre içi Na^{++} artışına membran depolarizasyonu da eklenince Na^{++} - Ca^{++} kanalları ters çalışır. Neticede zararlı miktarda kalsiyum (Ca^{++}) hücre içine girer. Saxitoxin Na^+ kanallarını bloke ederek yaralanmayı azaltmakta, veratridine ile ise Na^+ kanal permabilitesi ile yaralanma arttırılmaktadır (68). Ca^{++} iyon konsatrasyonu hücre dışında 1000 kat daha fazladır. Omurilik yaralanmalarında hücre membranlarının parçalanması, hücredeki enerji yetmezliği ve bunun sonucunda Na^{++} - Ca^{++} kanallarının iyi çalışmaması söz konusudur. Neticede Ca^{++} gradient farkı ile hücre içine akarak fosfolipazları, proteazları ve fosfatazları aktifler. Ca^{++} mitokondrial respiratuar enzimlere bağlanarak elektron transportunu bozar serbest radikal oluşumuna neden olur. Hücre ölümünde en etkili iyon Ca^{++} 'dur. Ca^{++} kanallarının bloke edilmesi (nimodipin, nikardipin) kan akımını arttırır (69,70). Kan transfüzyonu ve dopamin, adrenalin ve nimodipin, dextran ve nimodipinin kan akımını arttırdığı ve nörolojik iyileşmeye neden olduğu görülmüştür (15). Ca^{++} iyonunun hücreye bir diğer giriş yolu da glutamat reseptörleridir. Bu reseptörlerin bloke edilmesi omurilik yaralanmasında nörolojik sonuçları iyileştirir (71).

Omurilik yaralanmasından sonra glutamat ile aspartat dakikalar içinde hızla yükselir. Eksitator amino asitlerden (EAA) glutamat ve aspartat özellikle geç doku hasarında önemlidir. Bunların salınımının şiddeti omurilik yaralanma şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Orta şiddette 2-4 kat yükselirlerken şiddetli yaralanmalarda 10 katına kadar çıkabilirler. Glutamat 15 dakika da en yüksek değerine ulaşır. 120 dakika kadar yüksek kalabilir (1). NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptör antogonisti olan 3-propyl-1-phosphonic acid (CPP) ve dizocilopine(MK-801) ile yapılan çalışmalarda klinik iyileşme görülmüştür. NMDA reseptörlerini bloke etmenin bir diğer yolu da magnezyum ya da NMDA reseptörlerini glisin a da poliamin kısımlarını kapatmaktır. Magnezyum (Mg^+) lipid peroksidasyonunu önleyici etkisi ilk defa Süzer ve ark. tarafından gösterildi (72). Yine Mg^{++} 'un endotel hasarı ve kan omurilik bariyer yıkımını önlemesi endoteldeki glutamat antagonizmasına bağlıdır (73). Omurilik yaralanması sonrası non-NMDA ve metabotropik glutamat reseptörleri de önemli bir role sahiptirler (65,66).

Fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller antioksidanlarla inaktive edilir. Bunlar: enzimatik antioksidanlar (sitokrom oksidaz,süperoksit dismutaz ,katalaz, glutatyon peroksidaz) , non-enzimatik antioksidanlar (alfa-tokoferol, beta-karoten, glutatyon , askorbik asit, ürat, sistein , bilirubin, albumin) , metal bağlayıcılarıdır (seruloplazmin, transferrin ,laktoferrin) (74). Fakat travma sonrası gerek bu antioksidanların azalması gerekse oluşan serbest radikallerin lipidler, proteinler, nükleik asitler ile oluşturdukları reaksiyon ile daha çok serbest radikal oluşur. Travmayı takiben oluşan kanama neticesinde ferritin, hemoglobin ve transferinden açığa çıkan demir (Fe^{++}) membran fosfolipidlerinin peroksidasyonunu sağlayarak membranı parçalar. Hücre ölümeine yol açar. Ek olarak serbest oksijen radikallerinin endotel hasarına yol açmasıyla kan-omurilik bariyeri bozulur. Yaralanma alanına çok sayıda zararlı maddelerin birikimi gerçekleşir. MSS süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin yetersiz olması nedeniyle serbest radikal hasarına duyarlıdır. Ayrıca doymamış yağ asitleri, kolesterolün, askorbik asit ve Fe^{++} 'in fazla olması MSS'inde travmatik ve iskemik hasara duyarlı kılar. Serbest radikal tutuculardan klinik uygulamada en çok yer bulan sentetik steroid olan metil prednizolon'dur (75). İlk 8 saat içinde verildiğinde nörolojik düzelme üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (30mg/kg bolus ve takiben 23 saat süre ile 5.4 mg/kg/saat). İlk 3 saatte metil prednizolon başlanan hastalara 24 saat, 3-8 saat arasında gecikmiş steroid tedavisi alanlara ise 48 saat idame tedavi verilir (76). Metil prednizolon, PAF antagonistleri, siklooksijenaz ve lipojenaz etkilerini inflamatuvar yanıtı etkileyerek göstermektedir. Klorakin ve kolęisin de iskemi sonrası inflamatuvar yanıtı ve doku hasarını azaltır (77). Siklosporin A (12) ,vitamin E, selenyum (2) gibi antioksidanlarda serbest radikal tutucu özellikleri sebebiyle omurilik yaralanmalarında etkili bulunmuştur. Ayrıca melatonin, mexiletin , eritropoietin, tiopental ve propofolün lipid peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir (78-81).

Travmadan saatler sonra inflamatuvar yanıt gelişir. Birkaç gün içinde pik yapar (82). Bu yanıt endotel hasarı, inflamatuvar mediatörlerinin salımını, permabilite artışı, ödem oluşumu, inflamatuvar hücrelerin göçü ile mikroglianın aktivasyonu olarak gözlemlenir. Lezyon alanına birinci olarak polimorf nuklear granülositler birkaç saat içinde gelir. 24 saat sonra pik yapar. 3. günde kaybolur. Bu hücrelerin

infiltrasyon oranı ile kanama miktarı paralellik gösterir. Daha sonra monosit-makrofaj ve mikroglial hücre grubu lezyon alanına gelir. Burada asıl fonksiyon hücre artıklarının fagositozudur (30). Bradikinin, prostaglandinler, lökotrienler, platelet-aktive edici faktör ve serotonin gibi mediatörler lezyon bölgesinde birikirler (74). Katoh ve ark. ilk 4 gün içinde beyaz küre değeri yüksek olanlarda nörolojik kötülemenin daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (83).

Akut omurilik yaralanmasında oluşan mikrovasküler değişimler ikincil hasara uzanır. Tator ve ark. klip kompresyon modeli yaralanmasında hem yaralanma alanında hem de proksimal ve distalinde kanlanmanın durduğunu göstermişlerdir. İskemik alan geniş bir gri cevher ile komşu beyaz cevherde daha belirgindir. Gri cevherden beyaz cevhere giden arteriollerdeki vazospazm ve tromboz nedeniyle ikincil hasar artar (15,84). Kaptanoğlu ve ark. ilerleyici vasküler hasarı, omurilik kontüzyon yaralanması modelinde Evans blue tekniği ile göstermişlerdir (85). Bu çalışmada 2. ve 24. saatte hasar bölgelerinde Evans blue tutulumu incelenmiş. Sonuçta 24. saatte, 2.saate göre %76'lık bir artış gözlemlenmiştir (73). Beyaz cevher kan akımı travmadan sonraki 5 dakikada hızla azalır. 15 dakikada normale gelmeye başlar. Gri cevherde ise ilk 5 dakikada çok sayıda hemorojik bölge ortaya çıkar. Kanlanma ise saatler sonra bile yoktur. Omurilikteki özellikle gri cevherde kan akımını azalması iskemi ile sonuçlanır (86). Travmanın şiddeti ile omurilik iskemisi paralellik gösterir. Normalde omurilik arterial kan basıncındaki değişimlere reaksiyon veren bir otopregülasyona sahiptir. Ancak yaralanmadan sonra bu otopregülasyon bozulur. Sistemik hipotansiyona omurilik kan akımı azalması eşlik eder. Kan basıncını arttırmak omurilik kan akımını yükseltmez. Sadece yaralanma bölgesine yakın yerlerde hiperemi oluşturur (15).

Omurilik yaralanmasında hücre ölümü nekroza ve apoptoza bağlı olabilir (87,88,89,90). Oligodendrositler iskemik olaya nöronlar kadar duyarlıdır ve apoptoza uğrarlar. Emery ve ark. omurilik yaralanmasını takiben kaspaz-3 aktivitesinin oligodendrositlerde yükseldiğini ifade etmişlerdir (88). Keane ve ark. kaspaz-8 ve kaspaz-9 gibi başlatıcı kaspazların lezyonda 30 dakika da aktiflendiğini göstermişlerdir (91). Omurilik yaralanmasının sonraki döneminde bu kaspazlar beyaz cevherde de artmaya başlar. Springer ve ark. kaspaz-3 aktivitesinin yaralanmadan

sonraki 1 saat içinde 3 katına yükseldiğini göstermişlerdir (90). Citron ve ark. ise apoptozisin 3.günde en üst değerine ulaştığını göstermişlerdir (92). Tüm bu çalışmalar omurilik yaralanmalarında gerek mitokondrial kaspaz gerek ise ölüm reseptörlerinin rol aldığını göstermekle beraber olayı neyin başlattığı tam olarak bilinmemektedir. Bethea ve ark omurilik yaralanmalarında tümör nekrozis faktör-alfanın (TNF- α) ölüm sinyalinin başlattığını göstermişlerdir (93). Apoptozise bağlı hücre ölümü protein ve enerji gerektiren aktif bir olaydır. Fehlings ve ark. fas ile aktarılan apoptozun fasR ile önlenilebileceğini göstermişlerdir (94-96) Basic ve ark. ise İnterlökin (IL)-10'un glutamat ile indüklenen kaspaz -3 'ün aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir (97).

2.7.2.3 Subakut faz (2 gün – 2 hafta)

Bu dönemde geç astrosit yanıtı söz konusudur. Bu astrositler hipertrofik hale gelir ve proliferer olurlar. Böylece gliotik nedbe dokusunu oluştururlar. Bu nedbe dokusu aksonal iyileşim sürecinde hem fiziksel hem de kimyasal bir bariyer görevi üstlenir. İnsanda bu nedbe dokusu azdır (98). Astrositler ayrıca iyon dengesinin sağlanmasında, kan beyin bariyerinin korunmasında ve ödemin çözülmesinde etkilidirler (11).

2.7.2.4 Orta faz (2 hafta- 6 ay)

Astrositik nedbe ve yenilenen aksonal dallanmanın devamı söz konusudur. Farklı traktusların omurilik yaralamasına değişik süredeki cevapları her nöral grup için farklı tedavi seçeneklerini ortaya koymaktadır (11).

2.7.2.5 Kronik faz(>6 ay):

Bu faz olayın olgunlaşması ve stabilizasyonunu içerir (kist, sirinks, nedbe dokusunun devamı). Yine bu dönemde hasarlı aksonların ortadan kaldırılması için bazen yıllar süren Wallerian dejenerasyonu izlenir. Bu faz 6 aydan sonra başlar, hayat boyu sürer (99). Nörolojik defisit ise genel olarak 1-2 yıl içinde sabit hale gelir (11).

Tablo 3: Akut omurilik yaralanması fazları ve anahtar patolojik olaylar

Fazlar ve Anahtar Olaylar	Omurilik Yaralanması Sonrası Geçen Zaman				
	≤2 saat	≤48saat	≤14 gün	≤ 6 ay	≥6 ay
Yaralanma Fazı	Birincil(primer) hasar	Erken Akut	İkincil(sekonder) subakut	Orta	Kronik-geç
Anahtar Olaylar	Primer mekanik yaralanma Aksonların travmatik yaralanması Gri cevher hemorajisi Hemorajik nekroz Mikroglial aktivasyon Faktör salınımı:IL-1β,TNFα, IL-6,vb.	Vazojenik –sitotoksik ödem ROS üretimi-lipid peroksidasyon Glutamat bağımlı eksitotoksisite Devam eden hemoraji ve nekroz Nötrofil invazyonu Kan –Beyin bariyer yıkımı Erken demiyelinizasyon(oligodendrosit ölümü) Nöronal ölüm Aksonal şişme Sistemik olaylar(sistemik şok, spinal şok, hipotansiyon, hipoksi)	Makrofaj infiltrasyonu Astroglial skar başlangıcı (reaktif astrositler) Kan- beyin bariyer tamiri ödemin çözülmesi	Glial skar oluşumunun devamı Kist formasyonu Lezyon stabilizasyon	Uzamış Wallerian dejenerasyon Korunmuş omurilik dokusunun yapıysa ve fonksiyonel plastisitesi
Tedavi Yaklaşımları	Nöroproteksiyon	Nöroproteksiyon İmmün modülasyon Remiyelinizasyon için hücre tedavileri Glial skar yıkımı	-	Glial skar yıkımı	Rehabilitasyon Nöroprotezler

2.8 Yaralanmış Omuriliğin Endojen Tamir ve Rejenerasyon Çabaları

Omurilik kontüzyon yaralanmalarında travma şiddetiyle orantılı sağlam çevresel lifler izlenir. Kaviteler zamanla sellüler matriks, sinir lifleri ve Schwann hücreleri ile dolar. Kavite içine doğru bu büyüme travmanın şiddetiyle ters orantılıdır. Sinir liflerinin büyük kısmı dorsal köklerden oluşur. Ayrıca kontüzyon yaralanmasının ilk döneminde santral kanalı çevreleyen ependimal hücreler proliferasyona uğrar. Bu hücreler hem hücresel infiltrasyonu hem de akson rejenerasyonuna olanak sağlarlar (100). Tator ve ark. latent ependim hücrelerinin

omurilik travmasından sonra lokal olarak aktive olduklarını göstermişlerdir (101). Bu endim hücrelerinin aktivasyonu 1-3. günde en üst değerinde iken 2 hafta sonra normal değerine gelir. Ependimal hücrelerin gliaya ve nöral hücrelere dönüşebildiği henüz gösterilmemiştir. Ancak lateral ventriküldeki subependimal hücrelerin nöronlara dönüştü izlenmiştir (11).

2.9 Siklosporin

Bir tür fungustan elde edilen 11 amino asitli siklik bir polipeptid olan siklosporin immünosüpresif bir ilaçtır. CD4 tipi T lenfositlerin uyarılması ile başlayan, Ca⁺⁺ bağımlı bir fosfataz enzimi olan kalsinörin'i inhibe eder. Bunu stoplazmik bir enzim olan siklofilin ile birleşerek yapar. Böylece inaktive durumda stoplazmada bulunan ve aktive edilmiş T lenfositlerin nükleer faktörü adı verilen faktörün hücre çekirdeğine nakli gerçekleşir. Bu faktör IL2 başta olmak üzere birçok düzenleyici proteinin (IL3, IL4, TNF- α ve interferon gama gibi) üretimini azaltır.

Siklosporin olgun T lenfositler üzerinde etkisizdir. Bu nedenle antijenle karşılaşılmasından hemen sonra tercihen ilk 24 saat içinde uygulanmalıdır. İmmünosüpresif etkisinin üç önemli özelliği vardır. 1. Baskılayıcı lenfositlerin fonksiyonunu bozamaz ve yardımcı T lenfositlerce yapılan süpresör hücreleri uyaran lenfokinlere dokunmaz. 2. Kemik iliğini baskılamaz. 3. Natürel killer hücreleri inhibe etmez. Makrofajlar üzerindeki etkinliğinin az olması nedeniyle prednizon ile birlikte kombine edilebilir.

Siklosporin oral alınabilir, fakat biyoyaralanımı az ve değişkendir. Daha çok karaciğer, endokrin bezler, böbrekler ve yağ dokusunda birikir. Barsak ve beyinde çok az toplanır. Klinikte esasen üç durumda kullanılır.

- a- Böbrek, kemik iliği, karaciğer, kalp ve akciğer ile yapılan allogreftlerin retreaksiyonunun önlenmesi
- b- Kemik iliği transplantasyonundan sonra oluşan graft-versus-host reaksiyonunun önlenmesi ve tedavisi
- c- Otoimmün hastalıkların tedavisi

En ciddi ve en sık yan etkisi böbrek üzerinedir ve bu toksisite doz kısıtlayıcıdır. Bu nedenle siklosporin tedavisi sırasında serum kreatin düzeyi yakından izlenmeli, hidrasyon sağlanmalı ve mannitol ile diürez yapılmalıdır. Diğer yan etkileri ise nörotoksisite, tromboembolizm, hepatotoksisite, hipertansiyon daha az olarak da gingiva hiperplazisi, kıllanma, psikiyatrik bozukluklar, baş ağrısı, kulak çınlaması, jinekomasti sayılabilir. Biyoyararlanım ve eliminasyonun farklı olması nedeniyle özellikle idame dönemlerinde siklosporinin kan düzeyi yakından izlenmelidir (102).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı tarafından Hayvan deneyleri laboratuvarı ile Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması süresince gerçekleştirilen tüm deneyler Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 19.12.2012 tarih ve 252 karar numarasıyla onay alındıktan sonra yapılmıştır (Bkz Ek1).

Araştırma yeterli hava sirkülasyonu ve çevre ısısının sağlandığı odalarda gerçekleştirildi. Kord hasarlandıktan sonra tüm denekler uygun beslenmeleri için gruplar halinde ayrı kafeslerde tutuldu. Günde iki kez manuel kompresyonla mesaneleri boşaltıldı.

Çalışmada toplam 18 adet ağırlıkları 200–300 gr arasında değişen Spraque Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı.

3.1 Gruplar:

Çalışmamız 3 grup üzerinden planlandı:

Grup 1: (Sham-Kontrol) (n=6) :T7-T9 seviyesinde sadece laminektomi uygulanan grup.

Grup 2: (İnjury) (n=6) : T7-T9 seviyesinde laminektomi yapılması akabinde dura intakt bırakılarak bir dakika boyunca medulla spinalise Tator ve Rivlin klip kompresyon modeli uygulanan ve herhangi bir tedavi verilmeyen grup.

Grup 3: (İnjury + Siklosporin) (n=6): T7-T9 seviyesinde laminektomi yapıp anevrizma klipi ile bası uygulandıktan sonra 30 dk içinde ve 3 gün boyunca intraperitoneal (İP) tek doz (5mg/kg) siklosporin (sandimmün-Novartis IV ampül) verilen grup.

3.2 Anestezi:

Cerrahi işlem öncesi tüm ratların normal motor fonksiyonda olup olmadığı kontrol edilerek 2mg/kg Ketamin (Ketalar, Parke-Davis Eczacıbaşı-İstanbul) ve 10 mg/kg Ksilazin intramuskuler enjeksiyonuyla anestezi uygulandı.

3.3 Cerrahi:

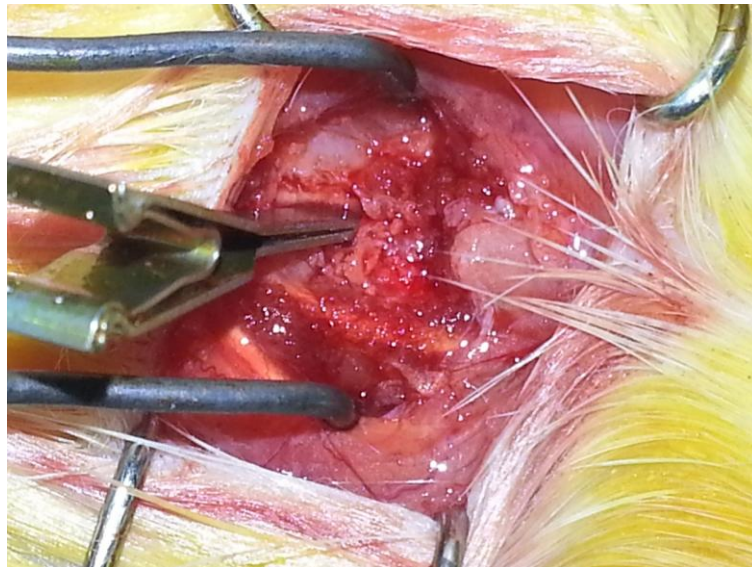
Anesteziden sonra ratlar tespit tahtalarına prone pozisyonunda yerleştirildi. Torakal bölge önce PVD iyodin (Batticon st solüsyon) ile sterilize edildikten sonra traş edildi; Cilt traşının ardından tekrar PVD iyodin ile sterilizasyon sağlandı. Operasyon boyunca ve anestezik etki sonlanana kadar ısıtıcı pedle vücut ısısı 37 C derecede tutuldu. İnterskapular mesafe referans alınarak T5-T12 seviyesinde 2 cm'lik insizyonla cilt, cilt altı geçilip paravertebral adaleler sıyrılıp, laminalar ortaya kondu. Elektrikli tur yardımı ile T 7-8-9 mesafelere laminektomi yapıldı. Açığa çıkarılan medulla spinalis segmentinde, duramater intakt bırakılacak şekilde 1 dakika boyunca anevrizma klipi ile bası uygulanarak standart omurilik travması oluşturuldu. Klip süre sonunda çıkarıldı. Grup 1'e sadece laminektomi yapıldı (Resim 1). Grup 2 ve grup 3'e laminektomi ve klip kompresyon ile omurilik travması oluşturuldu (Resim 2). Grup 3'teki 6 sıçana post-op intraperitoneal (İP) siklosporin (sandimmün-Novartis IV ampül) 5mg/kg olarak verildi. Hemostazı takiben paravertebral adaleler ve cilt anatomik katlarına uygun olarak 3/0 vicryl ile primer suture edildi.

Sıçanlar normal oda ısısında, normal olarak uyandırıldı. Sıçanlar uyandığında motor muayeneleri yapıldı. Omurilik travması oluşturulan 12 sıçanın paraplejik

olduğu görüldü. Sadece laminektomi yapılan, kontrol grubundaki 6 sıçanın motor kuvvetlerinin tam olduğu gözlendi. Sıçanlar mesane fonksiyonları, idrar çıkışı takibi ve motor fonksiyonları değerlendirilmek amacı ile uygun ortam ısısının sağlandığı her biri ayrı kafeste olacak şekilde kafeslerine kondu, standart fare yemi ile beslendi. Sıçanların motor fonksiyonları Drummond ve Moore kriterleri (90) ve eğik düzlem kullanılarak travmanın 1., 3., 5. ve 10. günlerinde değerlendirildi. 10. gün denekler sakrifiye edilerek omurilik doku örneklere alındı.



Resim 1: Laminektomi sonrası spinal kord görünümü.



Resim 2: Klip kompresyon ile spinal kord hasarı oluşturulması.

3.4. Klinik Nörolojik Muayene

3.4.1 Drummond ve Moore kriterleri ile değerlendirme: Burada Drummond ve Moore kriterleri ile hayvanların 1. 3. 5. ve 10. günlerindeki motor muayeneleri değerlendirildi (103).

Tablo 4: Drummond ve Moore kriterleri

0	Paraplejik, alt extremitelerde motor fonksiyon yok
1	Alt extremitelerde motor fonksiyon zayıf, sadece yer çekimine karşı güç iyi fakat bacaklarını vücudun altına çekemiyor.
2	Orta derecede alt extremitate motor fonksiyonu, yer çekimine karşı güç iyi fakat bacaklarını vücudun altına çekemiyor.
3	Motor fonksiyon çok iyi, bacaklarını vücudun altına çekip zıplayabiliyor, fakat tam normal motor fonksiyon değil
4	Normal motor fonksiyonu

3.4.2 Eğik düzlem ile değerlendirme: Rivlin ve Tator tarafından 1977’de tanımlanan bu testte hayvanın 5 sn’ye boyunca kaymadan durabildiği en büyük açı puan olarak değerlendirilirdi (15,16). Sıçan, düzgün zemin üzerinde yere paralel olarak yerleştirilmiş bir tabla üzerine kondu. Daha sonra tabla sabit olmayan tarafından kaldırılarak eğimi arttırıldı. Hayvanın, tabla üzerinde 5 saniye boyunca düşmeden durabildiği en yüksek açı, eğik düzlem açısı olarak kabul edildi. Bu çalışmamızda bütün gruptaki sıçanlara cerrahi işlem sonrası 1., 3., 5. ve 10. günlerde eğik düzlem testi uygulandı.

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme için alınan omurilik segmentleri %10’luk formalinde fikse edildi. Sham grubunda ortalama 3cm uzunluğunda, 3–4 mm çapında normal silindirik dış yüzeyleri düzgün kirli beyaz görümlü 6 adet doku parçası; travma grubunda ortalama 3 cm uzunluğunda 3-4mm çapında silindirik şekilli, tam

ortasında klip kompresyonu uygulanan kor alanda koyu renkli görünüm izlenen toplam 6 adet doku parçası ve travma sonrası siklosporin uygulanan grubun doku parçalarında ise ortalama 3 cm uzunluğunda 3-4mm çapında, makroskopik olarak travma grubundan çok farklı görünmeyen 6 adet doku parçası mevcuttu. Kontrol, travma ve siklosporin uygulanan gruplardaki doku parçalarının tamamı takibe alındı. Rutin takip prosedüründen sonra hazırlanan parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında hasar oluşturulan (core zone) alandan alınan kesitlerden elde edilen preparatlar Hematoksilen-Eozin (HE), Luxol Fast Blue ile boyanarak nekrotik alanlar ölçüldü.

Nekroz alanı bir bölgede ise (+), kesitin yarısına yakınsa (+ +), yaygın ise (+ + +) olarak değerlendirildi.

TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling) tekniğinden faydalanılarak da ratlarda hasar oluşturulan spinal bölgede apoptotik hücreler sayıldı.

3.5.1 Işık mikroskopik değerlendirme:

1. %10'luk formaldehite alınan doku örnekleri, solüsyonlar değiştirilerek 48 saat süre ile tespit edildi.
2. Daha sonra akan musluk altında yıkandı.
3. % 70'lik alkolde iki saat bekletildi.
4. % 96'luk alkolde bir saat bekletildi.
5. % 100'lik alkolde bir saat bekletildi.
6. Ksilol I' de bir saat bekletildi.
7. Ksilol II'de bir saat bekletildi.
8. Eşit miktarlarda hazırlanmış Ksilol-parafin karışımında 64°C' de etüvde 30 dakika bekletildi.

9. Parafin I' de 64° C ' de etüvde üç saat bekletildi.
10. Parafin II' de 64° C' de etüvde üç saat bekletildi.
11. Takip edilen dokular silikon bloklama kaplarına gömülerek etiketlendi ve sertleşmesi için buzdolabına konularak parafin bloklar hazırlandı.

Sertleşen bloklardan Leica® RM 2125 RT mikrotom aleti ve Leica® mikrotom bıçakları kullanılarak 4-5 mm kalınlığındaki parafin kesitler alındı. Bu kesitlere genel dokuyu, hasar alanlarını değerlendirmek için hematoksilen-eozin, Luxol Fast Blue boyaması, apoptozisi göstermek için TUNEL yöntemi ile immunhistokimyasal boyama yapıldı.

Hematoksilen-Eozin boyama

Parafin kesitler 60 ° C de etüvde bekletildi.

1. Ksilol I' de 2 dakika bekletildi.
2. Ksilol II' de 2 dakika bekletildi.
3. İki defa %100'lük alkolde birer dakika bekletildi.
4. İki defa %96'lık alkolde birer dakika bekletildi.
5. Çeşme suyunda yıkandı.
6. Hematoksilen boyasında 3 dakika bekletildi.
7. Çeşme suyunda yıkandı.
8. Asit alkole 2 kere daldırıldı.
9. Çeşme suyunda yıkandı.
10. Amonyaklı suda 10-15 sn 'ye bekletildi.
11. Çeşme suyunda yıkandı.
12. %80 'lik alkolde bir dakika bekletildi.
13. Eozin boyasında bir dakika bekletildi.
14. 2 defa % 96'lık alkolde ikişer dakika bekletildi.
15. İki defa % 100'lük alkolde ikişer dakika bekletildi.

16. Ksilolde 10 dakika bekletildi, çıkarılıp entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Myelin boyaması

Kluver ve Barera'nın 1953 yılında yayınladıkları makaledeki yöntemlerine uyularak myelin boyaması yapıldı (104).

Luxol Fast Blue solüsyonu:

Luxol Fast Blue 0.25 gr.

%95'lik alkol 250 ml.

İçinde çözülür Her 100 ml. İçin 0,5 ml %10' luk asetik asit eklenir.

Kristal viyole solüsyonu;

Kristal viyole 0,25 gr.

Distile su 250 ml.

İçinde çözülür. Kullanmadan önce 0,15-0,20 % 10' luk glisial asetik asit eklenir, 57° C etüvde ısıtılır.

Lityum karbonat solüsyonu:

Lityum karbonat 0,1 g.

Distile su 200 ml. İçinde çözülerek kullanılır.

Boyama prosedürü:

1. Deparafinizasyon işleminden geçirilen kesitler, % 95' lik alkole alınır.
2. Luxol fast blue boyasında 60 ° C'lik etüvde bir gece bekletilir.
3. % 95' lik alkole alınıp boya artıları giderilir.
4. Distile suda yıkanır.
5. Lityum karbonatta 10 sn. tutulur.
6. % 70' lik alkole alınır.
7. Bu aşamada kesitlere mikroskopta bakılarak gri madde renksiz, beyaz madde yeşilimsi mavi olana kadar lityum karbonat ve alkol aşaması tekrarlanır.
8. Distile suya alınır.
9. Kristal viole solüsyonunda 6 dk. bekletilir.
10. % 95' lik alkolde birkaç defa bekletilir.
11. Absolü alkole alınır.
12. Sonuçta myelin mavi, sinir hücreleri pembe-mor görülürler.

3.5.2 İmmunhistokimyasal değerlendirme

TUNEL boyaması

Hazırlanan parafin bloklardan polizinli lamlara (Menzel Glaser) 4-5mm kalınlığında kesitler alındı. Medulla spinalis dokularında apoptotik hücreleri göstermek için TUNEL yöntemi ile In Situ Cell Death Detection Kit, POD (ROCHE, ABD, 50 test, cat no: 11 684 817 910, lot no: 10854100) apoptoz kiti kullanılarak immün işaretleme yapıldı. Apoptotik sinyaller Deoksiribonükleik asit (DNA) üzerinde kırıklar oluşturmaktadır. Açığa çıkan DNA parçacıklarının serbest 3-OH uçlarına terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) aracılığı ile biotin ile işaretlenmiş ve işaretlenmiş deoksinükleotidler eklenir. Daha sonra biotin ile işaretlenmiş nükleotidler, streptavidin-horseradish peroksidaz konjugatı ile tespit edilir. Diaminobenzidine, işaretlenmiş örnek ile tepkimeye girerek DNA kırığı bölgesinde çözünemeyen bir substrat oluşturur. Metil yeşili ile ters boyama yapılarak deney sonlandırılır.

Polizinli lamlara 4-5 mm kalınlığında alınan kesitler 1 gece boyunca 37 °C' lik etüvde bekletildi. Ertesi sabah 2 saat 54 °C' lik etüvde bekletilen dokular ksilene alındı.

1. Üç kere 5' er dakika ksilende bekletildi.
2. Etüvde kurutulan dokuların etrafı etüvden çıkınca pappen ile çizildi.
3. On dakika % 100' lük alkolde bekletildi.
4. On dakika % 96' lık alkolde bekletildi.
5. On dakika % 90' lık alkolde bekletildi.

6. On dakika % 80' lik alkolde bekletildi.
7. On dakika % 70' lik alkolde bekletildi.
8. Üç dakika distile suda bekletildi.
9. Fosfat tampon solüsyonunda (PBS) yıkandı.
10. Lamlar, içinde 200 ml. 0,1 M sitrat buffer pH 6.0 olan dayanıklı plastik kaba konarak 350 W' ta 5 dakika mikrodalgada kaynatıldı.
11. PBS içinde kesitler iki defa yıkandı.
12. Kitin içinden çıkan label solüsyonundan 100 mm. Negatif kontrol için ayrıldı. (Negatif kontrol için mm. Label solüsyonu TUNEL reaksiyon karışımı yerine kullanıldı.)
13. Kalan 450 mm. Label solüsyonuna 50 mm.enzim solüsyonunun tamamı konup 500 ml' ye tamamlanarak TUNEL reaksiyon karışımı yapıldı. İyice karıştırıldı.
14. Kesit etrafındaki bölge kurulandı.
15. Örnek üzerine 50 ml. TUNEL reaksiyon karışımı kondu. Buharlaşmayı önlemek için üzeri parafilm veya plastik lamel kapatılarak 60 dakika 37° C' de nem kabininde inkübe edildi.
16. Süre sonunda kesitler PBS ile 3 defa yıkandı.
17. Örneklerin etrafı kurulandı.

18. Örneklerin üzerine 50 ml. Converter POD damlatıldı. Buharlaşmayı önlemek için parafilm veya plastik lamel kapatılarak 30 dakika 37°C’ de nem kabininde inkübe edildi.
19. Süre sonunda kesitler PBS ile 3 defa yıkandı.
20. 50-100 ml. DAB Substrat eklenerek 10 dakika 15-25 ° C’ de inkübe edildi.
21. Distile su ile 3 defa yıkandı.
22. Metil green’ le zıt boyama yapıldı.
23. Distile su ve musluk suyunda bekletildi.
24. Alkol ve ksilende bekletildi.
25. Entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.
26. Apoptotik hücreler ışık mikroskopta analiz edildi (104).

3.6 İstatiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken niceliksel verilerin karşılaştırılmasında parametreler normal dağılıma uygunluk göstermediğinden parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann-Whitney U test kullanıldı. Parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Sonuçlar % 95’lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi

4. BULGULAR

Çalışma 3 grupta ve her grupta 6 adet olmak üzere toplam 18 adet sıçan üzerinde çalışıldı. Kontrol grubu “Grup 1”, Travma grubu “Grup 2” ve Siklosporin uygulanan grup “Grup 3” olarak adlandırılmıştır.

1. gün eğik düzlem derecelerine göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.003$; $p<0.05$) (Tablo-5). Grupların ikili karşılaştırmalarına göre; Grup 1’deki sıçanların 1. gün eğik düzlem dereceleri; Grup 2 ($p:0.004$; $p<0.05$) ve Grup 3’teki ($p:0.004$; $p<0.005$) sıçanların 1. gün eğik düzlem derecelerinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir (Tablo-7). Grup 2 ve Grup 3’teki sıçanların 1.gün eğik düzlem dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$) (Tablo-7).

3. gün eğik düzlem derecelerine göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.003$; $p<0.05$) (Tablo-5). Grupların ikili karşılaştırmalarına göre; Grup 1’deki sıçanların 3. gün eğik düzlem dereceleri; Grup 2 ($p:0.001$; $p<0.05$) ve Grup 3’teki ($p:0.004$; $p<0.005$) sıçanların 3. gün eğik düzlem derecelerinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir(Tablo-7). Grup 2 ve Grup 3’teki sıçanların 3.gün eğik düzlem dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$) (Tablo-7).

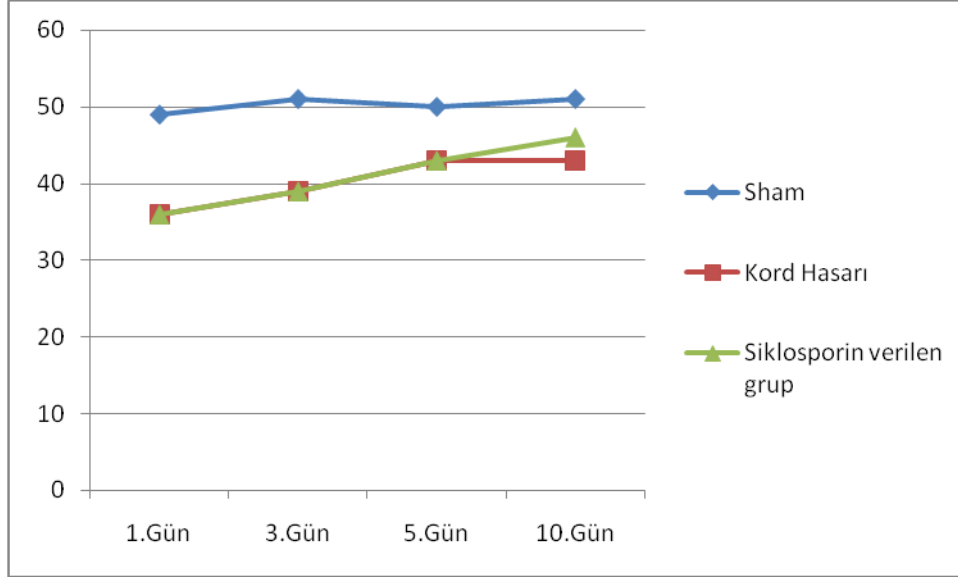
5. gün eğik düzlem derecelerine göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.004$; $p<0.05$) (Tablo-5). Grupların ikili karşılaştırmalarına göre; Grup 1’deki sıçanların 5. gün eğik düzlem dereceleri; Grup 2 ($p:0.005$; $p<0.05$) ve Grup 3’teki ($p:0.005$; $p<0.05$) sıçanların 5. gün eğik düzlem derecelerinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir (Tablo-7). Grup 3’teki sıçanların 5. gün eğik düzlem dereceleri, Grup 2’deki sıçanlardan kısmen yüksek olmalarına karşın halen istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yükseklik yok ($p:1.000$; $p>0.05$) (Tablo-7).

10. gün eğik düzlem derecelerine göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.001$; $p<0.05$) (Tablo-5). Grupların kendi içinde ikili karşılaştırmalarına göre; Grup 1'deki sıçanların 10. gün eğik düzlem dereceleri; Grup 2 ($p:0.005$; $p<0.05$) ve Grup 3'teki ($p:0.005$; $p<0.05$) sıçanların 10. gün eğik düzlem derecelerinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksekliği devam etmektedir (Tablo-7) . Grup 3'teki sıçanların 10. gün eğik düzlem dereceleri, Grup 2'deki sıçanlardan istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksekliğe ulaşmakta ($p:0.012$; $p<0.05$) (Tablo-7).

Grupların kendi içlerinde Wilcoxon testi ile yapılan değerlendirmelerine göre: Grup 1'de; eğik düzlem derecesine göre 1. ve 10. gün eğik düzlem karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0.05$)(Tablo- 8). Grup 2'de; eğik düzlem derecesine göre 5. ve 10. gün eğik düzlem derecesinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmezken ($p:0.317$; $p>0.05$) (Tablo- 8); diğer tüm gün karşılaştırmalarında istatistiksel bir anlamlılık saptanmıştır ($p<0.05$) (Tablo- 8). Grup 3'de; eğik düzlem derecesine göre tüm gün karşılaştırmalarında, eğik düzlem derecelerinde görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır($p<0.05$) (Tablo- 8).

Tablo 5: Kruskal- Wallis testi ile 3 grubun 1. Gün, 3. Gün, 5. Gün ve 10. Gün Eğik-Düzlem(Inclined Plane) Derecelerinin karşılaştırılması (p< 0,05)

GRUP	SHAM		KORD HASARI		SİKLOSPORİN VERİLEN GRUP		KRUSKAL-WALLİS İLE GRUPLAR ARASI KARŞILAŞTIRMA
	mean	St error	Mean	St error	mean	St error	
ED-1	48,50	1,607	36,17	1,327	36,17	1,327	0,003
ED-3	51,17	1,6	38,67	1,116	38,67	1,116	0,003
ED-5	49,50	1,384	42,67	0,667	42,67	0,667	0,004
ED-10	50,83	1,138	43,00	0,557	45,67	0,558	0,001



Grafik 1: Kruskal- Wallis testi ile 3 grubun 1. Gün, 3. Gün, 5. Gün ve 10. Gün Eğik-Düzlem derecelerinin karşılaştırılması

1. gün motor fonksiyon skorlarına göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.002$; $p<0.01$) (Tablo-5). Grupların ikili karşılaştırmalarına göre; Grup 1'deki sıçanların 1. gün motor fonksiyon skorları; Grup 2 ($p:0.002$; $p<0.05$) ve Grup 3'teki ($p:0.002$; $p<0.05$) sıçanların 1. gün motor fonksiyon skorlarından istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir (Tablo-7). Grup 2 ve Grup 3'teki sıçanların 1. gün motor fonksiyon skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$)(Tablo-7).

3. gün motor fonksiyon skorlarına göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.001$; $p<0.01$) (Tablo-5). Grupların ikili karşılaştırmalarına göre; Grup 1'deki sıçanların 3. gün motor fonksiyon skorları; Grup 2 ($p:0.002$; $p<0.05$) ve Grup 3'teki ($p:0.003$; $p<0.01$) sıçanların 1. hafta motor fonksiyon skorlarından istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir (Tablo-7). Grup 2 ve Grup 3'teki sıçanların 3. gün motor fonksiyon skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.057$; $p>0.05$) (Tablo-7).

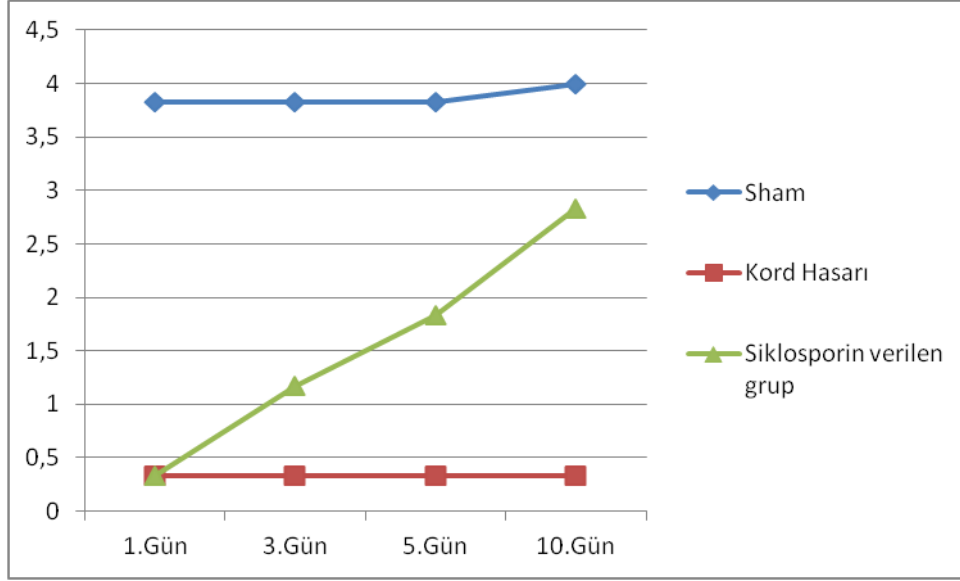
5. gün motor fonksiyon skorlarına göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p: 0.00$) (Tablo-5). Grupların ikili karşılaştırmalarına göre; Grup 1'deki sıçanların 5. gün motor fonksiyon skorları; Grup 2 ($p:0.002$; $p<0.01$) ve Grup 3'teki ($p:0.002$; $p<0.01$) sıçanların 5.gün motor fonksiyon skorlarından istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir(Tablo-7). Grup 2 ve Grup 3'teki sıçanların 5. gün motor fonksiyon skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p:0.004$; $p<0.01$) (Tablo-7).

10. gün motor fonksiyon skorlarına göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.00$; $p<0.01$) (Tablo-5). Grupların ikili karşılaştırmalarına göre; Grup 1'deki sıçanların 10.gün motor fonksiyon skorları; Grup 2 ($p:0.002$; $p<0.01$) ve Grup 3'teki ($p:0.001$; $p<0.01$) sıçanların 10. gün motor fonksiyon skorlarından istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir (Tablo-7). Grup 3'teki sıçanların 10. gün motor fonksiyon skorları, Grup 2'deki sıçanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p:0.002$; $p<0.01$) (Tablo-7).

Grupların kendi içlerinde Wilcoxon testi ile yapılan değerlendirmelerine göre: Grup 1'de; motor fonksiyon skorlarına göre 1. ve 10. gün karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0.05$)(Tablo- 9). Grup 2'de; motor fonksiyon skorlarına göre 1. ve 10. gün karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1,00$; $p>0.05$)(Tablo- 9). Grup 3'de; motor fonksiyon skorlarına göre 1. ve 10. gün karşılaştırmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim saptanmıştır ($p<0.05$)(Tablo- 9).

Tablo 6: Kruskal- Wallis testi ile 3 grubun 1. Gün, 3. Gün, 5. Gün ve 10. Gün Motor Fonksiyon Skorlarının karşılaştırılması (p< 0,05)

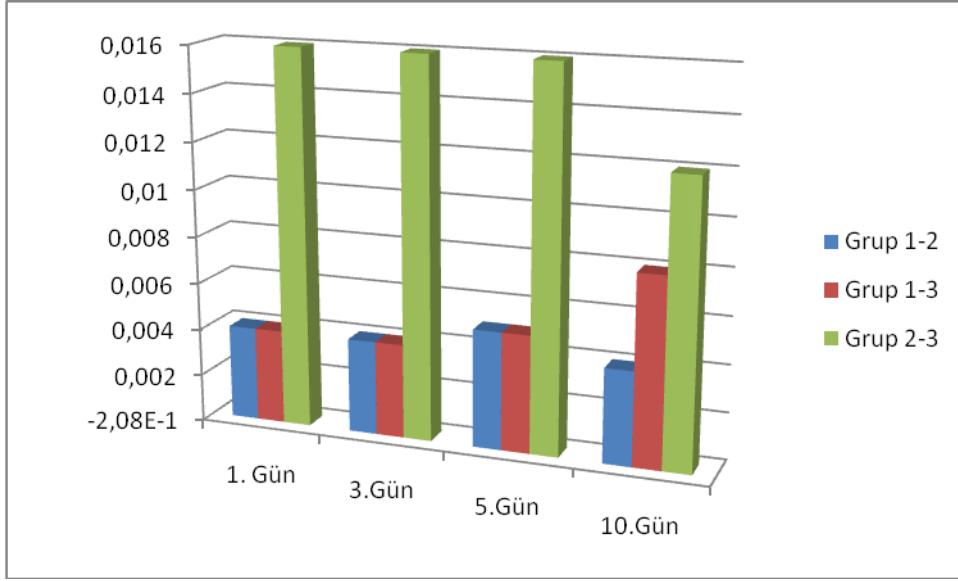
GRUP	SHAM		KORD HASARI		SİKLOSPORİN VERİLEN GRUP		KRUSKAL-WALLIS İLE GRUPLAR ARASI KARŞILAŞTIRMA
	mean	St error	Mean	St error	mean	St error	
MS-1	3,83	0,167	0,33	0,211	0,33	0,211	0,002
MS-3	3,83	0,167	0,33	0,211	1,17	0,307	0,001
MS-5	3,83	0,167	0,33	0,211	1,83	0,167	0,000
MS-10	4	0	0,33	0,211	2,83	0,167	0,000



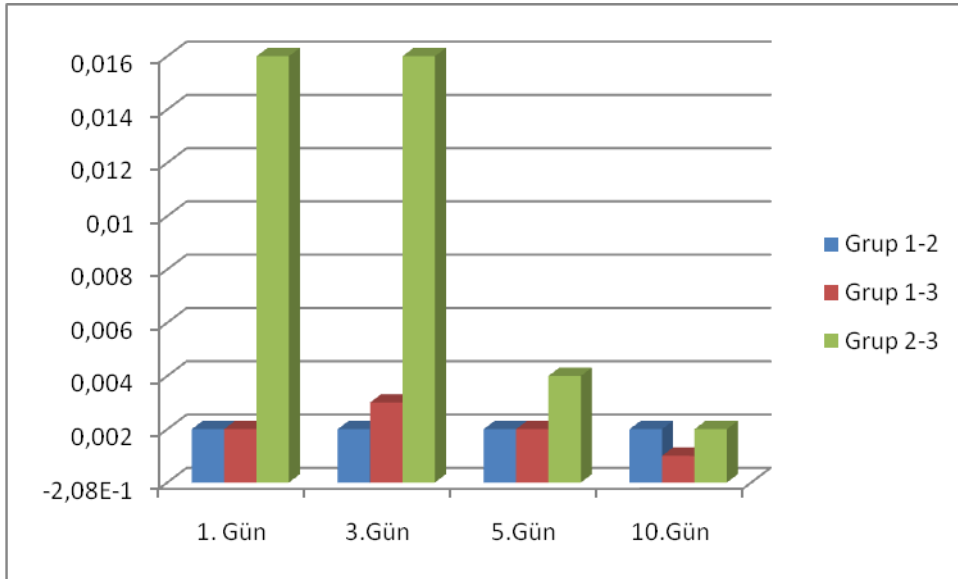
Grafik 2: Kruskal- Wallis testi ile 3 grubun 1. Gün, 3. Gün, 5. Gün ve 10. Gün Motor Fonksiyon Skorlarının karşılaştırılması ($p < 0,05$)

Tablo 7: Gruplar arası ikili karşılaştırma (Mann- Whitney-U Testi)

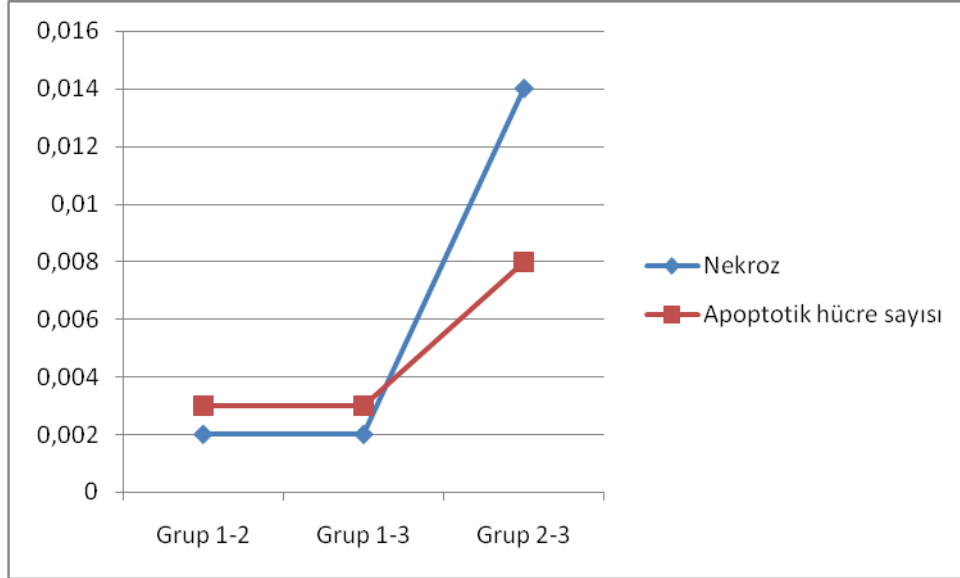
	ED-1	ED-3	ED-5	ED-10	MS-1	MS-3	MS-5	MS-10	Nekroz	Apoptotik hücre sayısı
Grup 1-2	0,004	0,004	0,005	0,004	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,003
Grup 1-3	0,004	0,004	0,005	0,008	0,002	0,003	0,002	0,001	0,002	0,003
Grup 2-3	1	1	1	0,012	1	0,057	0,004	0,002	0,014	0,008



Grafik 3: Gruplar arası eğik düzlem karşılaştırma



Grafik 4: Gruplar arası motor skor karşılaştırma



Grafik 5: Gruplar arası nekroz ve apoptotik hücre sayısının karşılaştırılması

Tablo 8 : Wilcoxon testi ile grup içi Eğik Düzlem verilerinin karşılaştırılması.

Grup		egikduzlem 3 - egikduzlem 1	egikduzlem 5 - egikduzlem 1	egikduzlem1 0 - egikduzlem1	egikduzlem 5 - egikduzlem 3	egikduzlem1 0 - egikduzlem3	egikduzlem1 0 - egikduzlem5
sham	Z	-1,633 ^b	-,813 ^b	-1,897 ^b	-1,261 ^c	-,317 ^c	-2,060 ^b
	Asym p. Sig. (2- tailed)	,102	,416	,058	,207	,751	,039
	Z	-2,214 ^b	-2,207 ^b	-2,201 ^b	-2,201 ^b	-2,023 ^b	-1,000 ^b
kordhasari	Asym p. Sig. (2- tailed)	,027	,027	,028	,028	,043	,317
	Z	-2,214 ^b	-2,207 ^b	-2,201 ^b	-2,201 ^b	-2,207 ^b	-2,032 ^b
	Asym p. Sig. (2- tailed)	,027	,027	,028	,028	,027	,042
kordhasari+siklosporin	Z	-2,214 ^b	-2,207 ^b	-2,201 ^b	-2,201 ^b	-2,207 ^b	-2,032 ^b
	Asym p. Sig. (2- tailed)	,027	,027	,028	,028	,027	,042
	Z	-2,214 ^b	-2,207 ^b	-2,201 ^b	-2,201 ^b	-2,207 ^b	-2,032 ^b

Tablo 9: Wilcoxon testi ile grup içi Motor-Skor verilerinin karşılaştırılması.

Grup		hasarskor3	hasarskor5	hasarskor10	hasarskor5	hasarskor10	hasarskor10
		- hasarskor1	- hasarskor1	- hasarskor1	- hasarskor3	- hasarskor3	- hasarskor5
Sham	Z	,000 ^b	,000 ^b	-1,000 ^c	,000 ^b	-1,000 ^c	-1,000 ^c
	Asymp. Sig. (2- tailed)	1,000	1,000	,317	1,000	,317	,317
	Z	,000 ^b	,000 ^b	,000 ^b	,000 ^b	,000 ^b	,000 ^b
kordhasari	Asymp. Sig. (2- tailed)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	Z	-2,236 ^c	-2,251 ^c	-2,251 ^c	-2,000 ^c	-2,271 ^c	-2,449 ^c
	Asymp. Sig. (2- tailed)	,025	,024	,024	,046	,023	,014

10. gün Hematoksilen-Eozin boyama ile nekroz sayıları değerlendirildiğinde grup-1 ile grup-2 karşılaştırıldığında arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.002$; $p<0.01$) (Tablo-7). Grup -1 ile grup-3 karşılaştırıldığında yine istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.002$; $p<0.01$) (Tablo-7). Çalışmamız açısından önemli olan grup-2 ile grup-3 karşılaştırmasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmektedir ($p:0.014$; $p<0.05$) (Tablo-7).

Tablo 10: Hemotoksilen-Eozin boyama ile gruplara göre nekroz sayıları .

	RAT1	RAT2	RAT3	RAT4	RAT5	RAT6
GRUP-1	0	0	0	0	0	0
GRUP-2	2	2	2	3	3	2
GRUP-3	1	1	2	1	1	2

10. gün Tunnel yöntemi ile apoptotik hücre sayısı değerlendirildiğinde grup-1 ile grup-2 karşılaştırıldığında arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.003; p<0.01) (Tablo-7). Grup -1 ile grup-3 karşılaştırıldığında yine istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.003; p<0.01) (Tablo-7). Çalışmamız açısından önemli olan grup-2 ile grup-3 karşılaştırmasında ise istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.008; p<0.01) (Tablo-7).

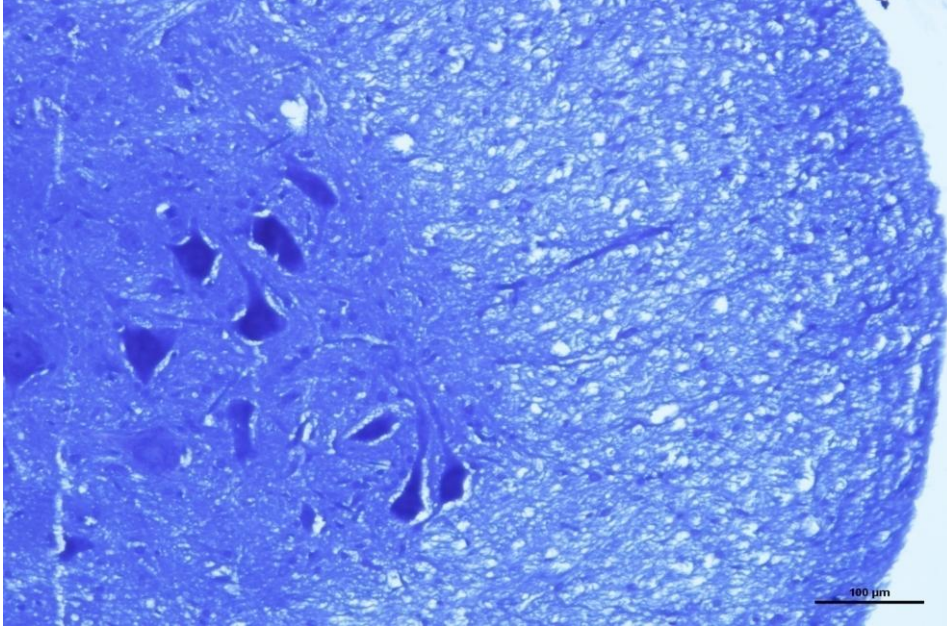
Tablo 11: Tunnel Boyama yöntemi ile Apoptotik hücre sayıları.

	RAT1	RAT2	RAT3	RAT4	RAT5	RAT6
GRUP-1	0	0	0	1	0	1
GRUP-2	8	10	17	13	11	9
GRUP-3	5	6	5	7	6	9

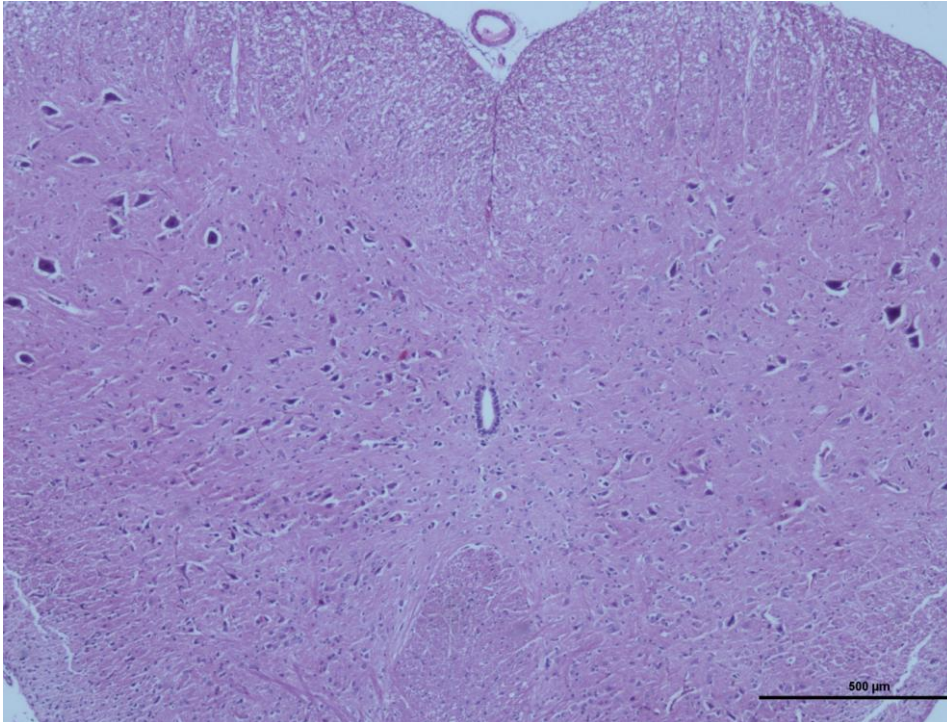
Tablo 12: Tunel Boyama yöntemi ile Nekroz ve Apoptotik hücre sayıları ortalamaları.

	Nekroz skoru	Apoptotik hücre sayısı
GRUP-1	0	0,33± 0,211
GRUP-2	2,33± 0,211	11,33±1,333
GRUP-3	1,33±0,211	6,33±0,615

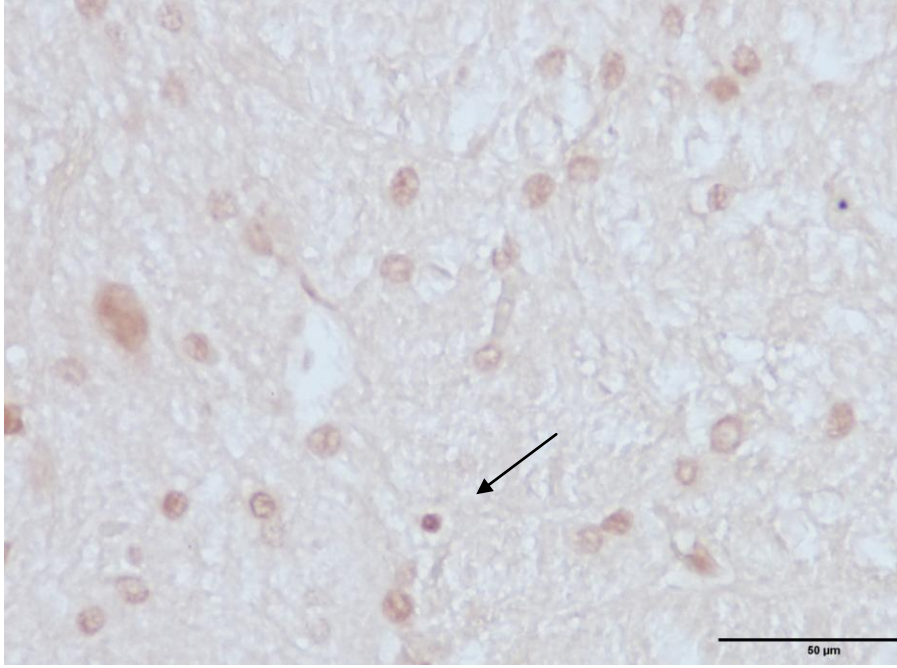
4.1 Işık Mikroskopisi Görüntüleri



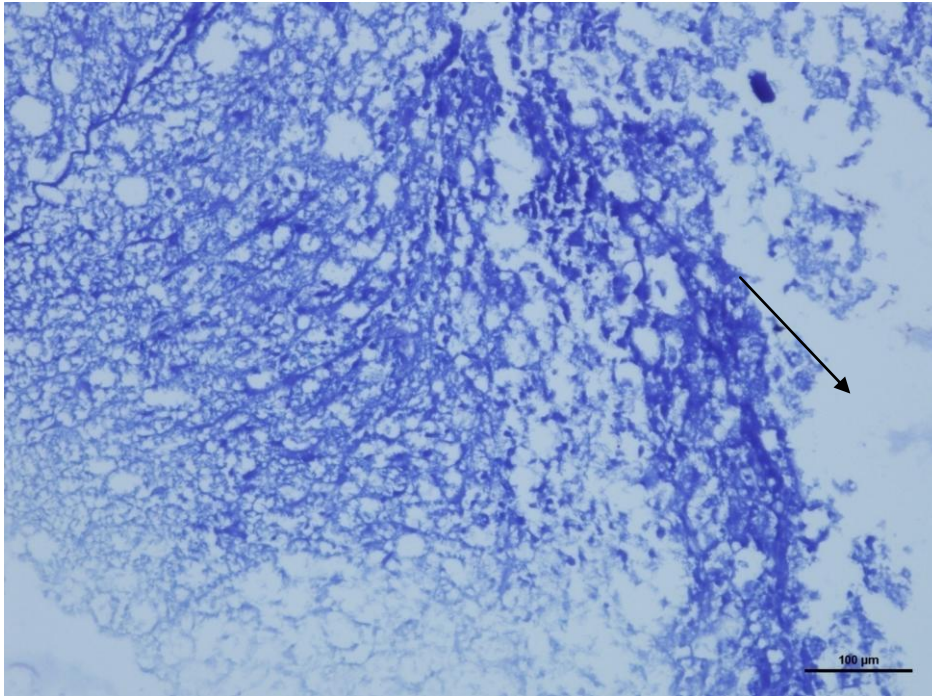
Resim 3 :Sham grubuna ait normal medulla spinalis kesiti. Luxol fast blue.



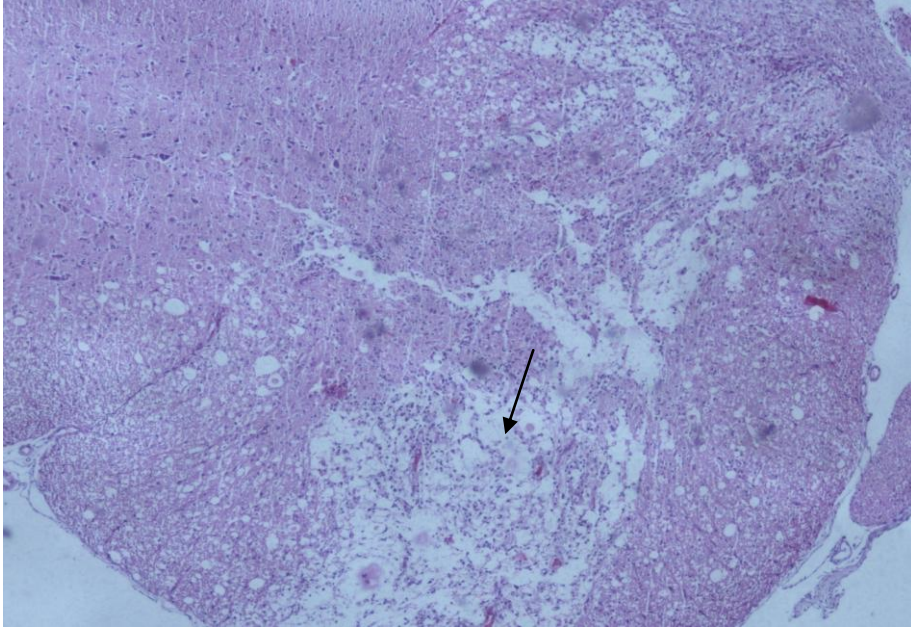
Resim 4: Sham grubuna ait görüntü. Hematoksilen&Eozin .



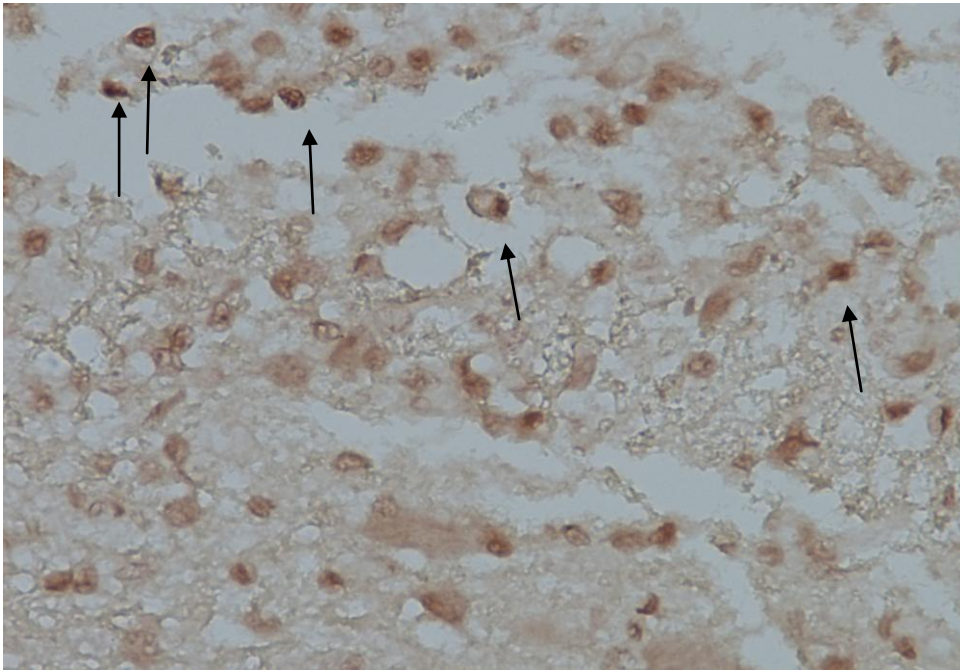
Resim 5: Sham grubuna ait kesitte apoptotik hücreler (→). TUNEL yöntemi.



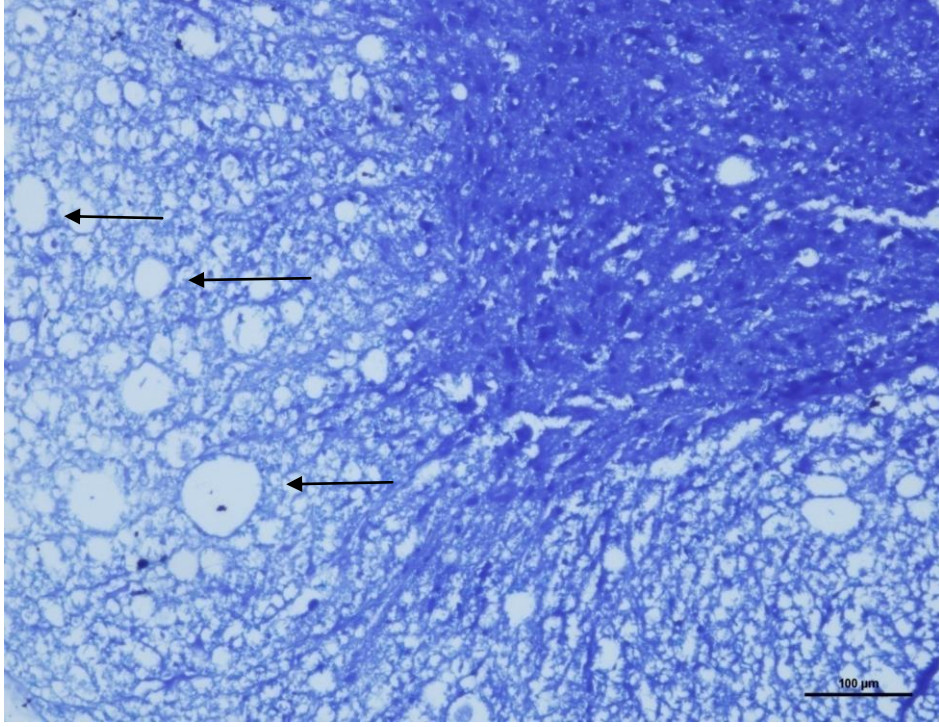
Resim 6: Spinal kord hasarı yapılan gruba ait görüntü. Lezyon alanında doku bütünlüğü kaybı, ödem (↗) görülmektedir. Beyaz maddede vakuolize akson yapıları göze çarpmaktadır. Luxol Fast Blue.



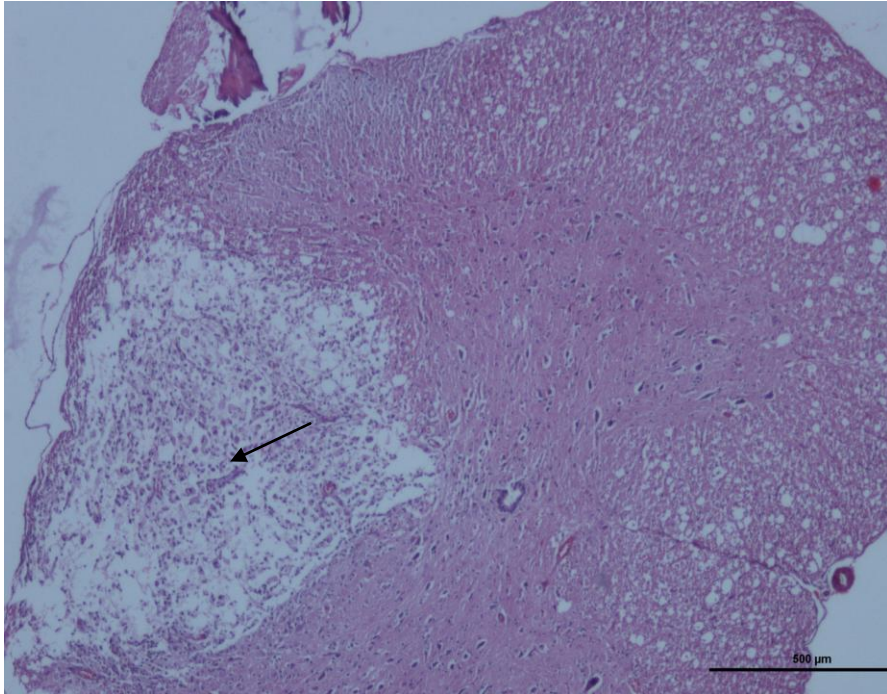
Resim 7: Spinal kord hasarı yapılan gruba ait görüntü. Lezyon alanı-core area (➤) bölgesinde doku bütünlüğünün kaybı, ödem, inflamatuvar hücrelerin artışı görülmektedir. Hematoksilen&Eozin .



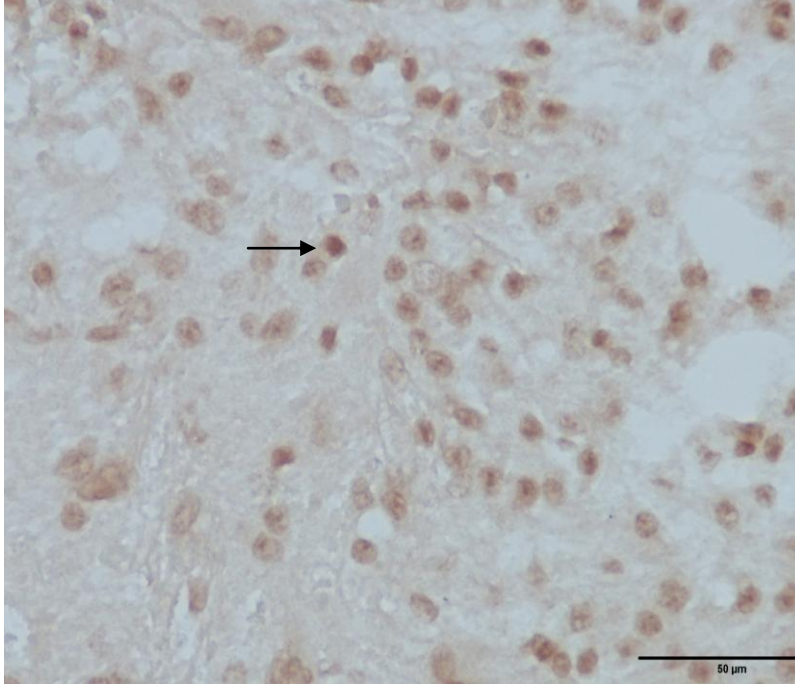
Resim 8: Spinal kord hasarı oluşturulan grupta artmış apoptotik hücreler görülmektedir (→). TUNEL yöntemi.



Resim 9: Spinal kord hasarı yapıp siklosporin verilen gruba ait görüntü. Myelinli aksonlarda belirgin vakuolizasyon (→) görülmektedir. Luxol Fast Blue.



Resim 10: : Spinal kord hasarı yapıp siklosporin verilen gruba ait görüntü. Lezyon alanı-core area (↘) bölgesinin daha sınırlı olduğu görülmektedir. Hematoksilen&Eozin .



Resim 11: Siklosporin verilen gruba ait kesitte apoptotik hücrelerin hasar grubuna göre daha az sayıda olduğu görülmektedir (→). TUNEL yöntemi.

5. TARTIŞMA

Omurilik yaralanmaları genellikle genç yaş grubunu etkilemekte; ağır sosyal, psikolojik ve ekonomik yıkımlara neden olmaktadır (105). Günümüzde uygulanan medikal tedavilerin hiç birisi henüz kaybolan nöral yapıları ve fonksiyonlarını geri yerine getirememekte; kök hücre nakilleri ise ancak gelecek için ümit vaat etmektedir.

Bugün, omurilik yaralanmasının patofizyolojisi en iyi bifazik (primer ve sekonder) yaralanma modeli ile tanımlanmaktadır. Omurilik yaralanmasının patofizyolojisi akson, kan damarı ve hücre membranlarının hasarına neden olan primer mekanik hasar ile başlar. Bu primer mekanik hasarın tetiklediği sekonder yaralanma evresi ile devam eder. Sekonder yaralanmada ise vasküler bozulma, ödem, iskemik, eksitotoksisite, elektrolit dengesizlikleri, lipid peroksidasyonu, serbest radikal üretimi, inflamasyon ve nekroz/geç apoptotik hücre ölümünden oluşmaktadır (11).

Primer yaralanma mekanizması kordaki tüm aksonları nadiren tam kesintiye uğratmakta, genellikle yaralanma bölgesini geçen sağlam aksonlar bulunmaktadır (56). Bu kurtulmuş aksonlar tedavi açısından çok önemlidir ve tedavideki ana hedefdir. Hayvan çalışmaları yaralanma bölgesini geçen %5 kadar aksonun olması ile nörolojik fonksiyonun kazanılması ya da korunmasının gerçekleşebileceğini göstermiştir (60,61).

Primer mekanik yaralanmanın tetiklediği sekonder yaralanma evresinin sağlam kalan aksonlarında etkilediğini biliyoruz. Bu sekonder nöral yaralanma zinciri birçok aşamadan oluşmakta ve yapılan tüm bilimsel çalışmalar bu yıkım zincirini bir/birden çok aşamasında durdurmak ve geri döndürmek üzerine kurgulanmaktadır. Yapılan binlerce deneysel çalışmalardan klinik düzeyde kullanıma giren yalnızca metilprednizolon olup, bunun da etkileri henüz klinik olarak netlik kazanmamıştır ve birçok ülkede spinal yaralanmada rutin olarak kullanılmamaktadır (11).

Bu çalışma bir immünsupressif ilaç olan siklosporin-A'nın, oluşturulan deneysel rat omurilik yaralanma modelinde sekonder omurilik yaralanması üzerine koruyucu (nöroprotektif) ve tedavi edici (rejeneratif) etkilerinin hem strüktürel hem de fonksiyonel açılardan ortaya konmasını amaçlamaktadır.

İmmünsupressif ajanlar 4 gruba ayrılmakta.

1. 1-T-hücre blokörleri (Siklosporin A, Takrolimus (FK506), sirolimus),
2. 2-Glukokortikoidler,
3. 3-Sitotoksik ilaçlar,
4. 4-Antikor belirteçleri (reagent)

T-hücre blokörleri içinde immünsupressif olarak günümüzde en sık ve en etkin kullanılan Siklosporin-A dır. Siklosporin-A, tolypocladium inflatum Gams adlı fungusun elde edilen, 11 amino asitli, siklik bir polipeptittir. Antijenin tanınmasını takiben, otoimmün cevabın erken basamaklarını önleyerek immünsupresyon yapar. Daha önceden gelişmiş bir otoimmün cevabı veya gelişmiş ret reaksiyonunu tedavi edemez; ancak gelişmeden önce verilirse cevabın veya reaksiyonun oluşmasını önler.

İndükleyici/yardımcı (CD4+) alt tip T lenfositlerini selektif bir şekilde inhibe eder, çoğalmasını ve farklılaşmasını engeller (106). Olgun T lenfositleri üzerinde etkisizdir. Bu nedenle antijen temasından (örneğin allojenik transplantasyondan) sonra mümkün olduğu kadar erken, tercihen 24 saat içinde uygulanmaya başlanmalıdır (106). İmmünsüpresif ve ikincil nöronal hasarı önleyici etkisini CD4+ tipi T lenfositlerinde, T lenfosit reseptörünün antijenle uyarılması ile başlatılan sinyalleme kaskadı basamaklarından birini oluşturan ve Ca⁺⁺ bağımlı bir enzim olan kalsinörünü selektif inhibe ederek gösterir. Bu olay zincirinde siklosporin, mitokondri membranında yer alan mitokondri membran transportu (MMT)'nu inhibe ederek hücre içine Ca⁺⁺ girişine engeller. Bunun için siklosporin-A'nın önce, sitoplazmik bir reseptör olan siklofiline bağlanması gerekir. Siklosporin-A'nın siklofiline bağlanması kalsiyum/calmodülün bağımlı kalsinörün aktivasyonunu inhibe eden bir protein kompleksi oluşturur. Bu kompleks kalsinörün ya da protein fosfataz 2B denilen fosfatazı inhibe eder (106). Eğer bu kalsinörün inhibe edilmez ise IL-2, IL-3, GM-CSF (Granülosit monosit-koloni stimüle faktör)ve TNF-a gibi sitokinlerin salgılanmasını düzenleyen nükleer transkripsiyon faktör (NTF) 'nuclear factor of activated T-cells'in defosforilasyonuna yol açar (107). Siklosporin -A'nın ana klinik etkisi muhtemelen, T hücreleri tarafından üretilen IL-2'nin inhibisyonudur; yani diğer T-hücrelerinin de proliferasyonunu sağlayan IL-2'yi inhibe etmesidir.

Nöral travma sonrası inflamasyonda önemli bir aşama mikroglia aktivasyonu ve lökosit infiltrasyonudur (108). Mikroglial hücreler SSS (Santral sinir sistemi)'nin bağışıklık hücreleri olarak bilinmektedir. İskemik dokunun lökositlerce infiltrasyonu sonrasında mikroglia ve astrositlerden inflamatuvar yanıtın önemli bir göstergesi olan sitokinler (IL-2, IL-3, TNF-a) açığa çıkmaktadır (109). Bu mikroglial hücrelerden TNF-a ve siklooksijenaz-2'nin ekspresyonunun inhibisyonunda siklosporin-A'nın etkili olduğu tanımlanmaktadır (110). Fonksiyonel açıdan daha ilginç bir şekilde siklosporin -A'nın mikroglial hücre hattında NO formasyonunu azalttığı görülmekte, ayrıca muhtemelen bu olayda sitostatik mekanizmada etkilenmektedir (111). Siklosporin-A'nın izole mikroglial hücreler üzerine olan etkisi analiz edildiğinde; Siklosporin-A'nın intrasellüler reseptörü olan mRNA (Messenger ribonükleik asit) nin kodladığı siklofilin, aktive

olmuş şekilde mikroglial hücre içinde bulunmuştur (112). Ayrıca, FK506 benzer şekilde, Siklosporin-A'nın CD4+ ün mikroglial ekspresyonunu zayıflattığı rapor edilmektedir (113). Bundan da öte periferik benzodiazepinlerin reseptör ligantlarının uyarılmasını takiben farklı mikroglial hücre hatlarında serbest radikal üretimini siklosporin-A bloke etmektedir (114).

Ayrıca siklosporin -A'nın etkisinin astrositlere kadar uzandığı görülmekte, çünkü siklosporin-A'nın astrositik apoptozisi ve TNF-a, IL-1 ve IL-2'nin astrositik salınımını belirgin bir şekilde azalttığı bilinmektedir (115,116).

Deneysel hayvan modellerinde serebral iskemi ve spinal kordun yaralanması gibi SSS'nin akut rahatsızlıklarında siklosporinin etkileri, ilk olarak 1990' lı yılların başlarında araştırılmış ve bu tedavinin yararlı etkileri; ratlarda geçici önbeyin iskemi modellerinde siklosporin-A'nın enfarkt ve ödem hacmini azalttığı rapor edilmiştir (117). Siklosporin -A ile tedavi sonrası iskemik hipokampus hücrelerinde beyin derive nörotrofik faktör artmış ekspresyonu bulgusunun nöroproteksiyona yol açabilecek kompleks moleküler işlevinin altını çizmektedir (118).

Benzer deneysel modellerde siklosporinin beyin derive nörotrofik faktör üretiminde artma, CREB (cyclic amp-response element binding protein) fosforilasyonunda artış ile ilişkilendirilmiş, hipokampal CA1 nöronlarında hayatta kalma miktarını düzelttiği gösterilmiş (118,119). Ratlarda bilateral karotit arter ligasyonu ile global serebral iskemi modellerinde siklosporin-A'nın beyaz cevher rarefactionu inhibe ettiği ve aktive edilmiş mikroglia hücre sayısında yaklaşık 1/5 oranında azalmaya yol açtığı bildirilmiş (120).

Deneysel Spinal kordun ve beyinin akut yaralanma modellerini takiben siklosporin uygulanması oldukça nadir, fakat bunlarda yararlı etkileri raporlanmış. Örneğin rat torakal spinal kordunun komple kesilerindeki siklosporin tedavisi sonrası aksonal rejenerasyonun arttığı, makrofajların ve mikroglial hücrelerin inflamatuvar etkilerinin azaldığı gösterilmiş (121). Aynı grup daha sonra rat torakal kord komple kesileri sonrası siklosporin tedavisi ile fonksiyonel seviyelerinde düzelme olduğunu raporlamış (122). Nöronlar üzerine siklosporin-A'nın yararlı etkileri ratlarda travmatik beyin yaralanması sonrası aksonal dejenerasyon modellerinde mitokondrial

şişmenin, b-amiloid prekürsör protein birikimi ve nöroflaman kompaksiyonunu azaldığı bulunmuştur (123,124). Torakal kord kontüzyon modelleri sonrası ilk 6 saat içerisinde siklosporin A uygulamasının lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve lezyona maruz bırakılan ratlarda hareketliliğin düzeldiği gösterilmiş (125). Diğer taraftan daha yakın tarihli bir çalışma bu sonuçlara itiraz etmiş ve siklosporin-A ile tedavi edilen travma grubunda spinal kord doku kaybını azaltmadığı ve motor skoru düzeltmediği rapor edilmiştir (126). Ancak bu başarısızlığa siklosporin-A'nın yetersiz dozlanmasıyla yol açtığı iddia edilmiştir (127). Yine en son olarak 2010 tarihli bir çalışma oligodendrosit prekürsör hücrelerinin (OPC) travmatize edilmiş spinal kord transportu sonrasında verilen siklosporin-A'nın kontrol grubuna göre histolojik ve buna korole fonksiyonel iyileşmesinin kontrol grubuna göre daha iyi olduğu ancak transport edilen oligodendrosit prekürsörlerinin astrosite dönüşmesini engellemediği rapor edilmiştir (128).

Sıvı perküzyon yaralanma modellerinde Travmatik beyin yaralanmasında siklosporin A'nın motor ve amnestik fonksiyonları düzelttiği raporlandı (129). İzole nöronlar üzerine siklosporinin etkilerini açıklayan rapor oldukça nadir, fakat deneysel lezyonlanmış nöroblastoma hücreleri üzerine yapılan araştırma siklosporinin hücreleri apoptozisten koruduğu kaspaz aktivasyonunu inhibe ettiği nöral büyümeyi aktive ettiğini göstermiştir (130,131).

Siklosporin –A günümüzde nöroimmünolojik bozukluklarda giderek artan oranda kullanılmak üzere olan bir ajan haline gelmiştir. Etkinliği şiddetli myastenia gravis, immünolojik olarak provoke polinöropatilerde ve myositislerde gösterilmektedir (132).

Travmatik beyin yaralanmalarında Faz –II klinik deneysel çalışmalar yapılmakta ve bu çalışmalar siklosporin-A'nın güvenilirliğini göstermektedir; fakat travmatik beyin yaralanmasının ardından özellikle siklosporin-A'nın uygulanma zamanlaması açısından çalışma modelleri heterojen özellikler göstermektedir (133).

Travmatik Spinal kord yaralanmalarında siklosporin-A'nın kullanımını bildiren henüz klinik bir çalışma literatürde mevcut değildir ve yine en azından bizim bilgilerimize göre siklosporin-A akut SSS bozukluklarında (iskemi vb), klinik olarak halen kullanılmamaktadır.

İnvitro ve invivo bu bulguların değerlendirilmesi ile siklosporin-A'nın mikroglyal hücreler üzerine direk inhibitör etki gösterdiği; nöroprotektif ve nörorejeneratif özellikleri olduğu; nöronlar ve diğer glial hücreler üzerine direkt etkilerinin olduğu kabul edilmektedir (134).

Yukarıda bahsedildiği gibi literatürde bizim çalışmamıza bire bir uyan bir deneysel çalışma yoktur ve aynı zamanda siklosporin ile yapılan deneysel omurilik yaralanması çalışma sayısı da çok sınırlı olduğu görülmektedir. Palladini ve ark (122)'lerinin torakal kord kesiminde siklosporin-A verilen gruplarda hem yapısal hem de fonksiyonel iyileşme gördüklerini; Yine Diaz-Ruiz ve ark. (125) ise torakal kord kontüzyonu sonrasında yine siklosporin-A verilen gruplarda lipid peroksidasyonunun azaldığını göstermişler. Ancak bu yayınlara karşı Rabchevsky ve arkadaşları (126) karşıt yönde yani siklosporin verilen grup da hem fonksiyonel hem de yapısal bir iyileşmenin görülmediğini rapor etmişlerdir. Literatürde en son siklosporin ile yapılan bir çalışmada ise OPC'nin travmatize edilmiş spinal kord transportu sonrasında verilen siklosporin-A verilen grubun kontrol grubuna göre histolojik ve bununla birlikte fonksiyonel iyileşmesinin daha iyi olduğu; ancak transport edilen oligodendrosit prekürsörlerinin astrosite dönüşmesini engellemediği rapor edilmiştir (128). Bizim çalışmamızda grup içi verilerinin Wilcoxon testi değerlendirilmesinde travma grubunda (Grup-2) 5. güne kadar yalnızca Eğik Düzlem testinde istatistiksel olarak anlamlı iyileşmeler görülmekle beraber (Tablo- 8), 5. günden sonra bu iyileşmenin durduğu ($p:0.317$; $p>0.05$) (Tablo- 7), ancak kord hasarı+siklosporin grubunda (Grup-3) ise iyileşmenin hem fonksiyonel hem de yapısal olarak istatistiksel anlamlılığına devam ettiği görülmekte (Tablo- 7); motor skor verilerine göre ise 5. güne kadar her iki travma grubunda da iyileşme istatistiksel olarak anlamlı olmamakta, 5. günden itibaren ise kord hasarı+siklosporin grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı şekilde iyileşmeler görülmekte (Tablo- 7). Gruplar ikili olarak ele alındığında ise (Mann-Whitney U Testi) hem fonksiyonel değerlendirme (eğik düzlem-motor skor); hem de yapısal değerlendirme (histolojik değerlendirme nekroz-apoptozis) sonuçları kord hasarı + siklosporin (grup-3) verilen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (Tablo- 7).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel rat omurilik yaralanma modeli çalışmamızda siklosporin –A nın sekonder omurilik yaralanması üzerine hem koruyucu (nöroprotektif) (nekroz /apoptozis verilerinin siklosporin-A verilen grub lehine), hem de tedavi edici (rejeneratif) (eğik düzlem ve motor skor verilerinin siklosporin-A verilen grup lehine) etkilerini, istatistiksel olarak ortaya koyduğumuzu düşünmekteyiz.

Ancak gerek çalışmamızdaki denek sayısının; gerekse literatürde yapılan çalışma sayısının çok sınırlı olması siklosporin-A nın etkilerinin net olarak ortaya konmasına engel olmaktadır. Bu nedenle çok daha fazla sayıda deneysel ve klinik çalışmanın yapılması gereklidir.

7. KAYNAKLAR

1. **Şenel A, Kaya AH.** Omurilik Yaralanmasında Farmakolojik Tedavi. Korfalı E, Zileli M. Temel Neuroşirürji cilt 2. Ankara: Buluş Tasarım ve Matbaacılık, **2010**: 1637.
2. **Tator CII:** Review of experimental SCI with emphasis on the local and systemic circulatory effects. Neurochirurgie, **1991**; 37: 291-302.
3. **Khan T, Havey RM, Sayers ST, Patwardhan A, King WW:** Animal models of spinal cord contusion injuries. Lab Animal Sci 1999; 49: 161-172.
4. **Yıldız O.**DeneySEL Omurilik Basısında Riluzole ve Magnezyum Sülfat Tedavisinin Etkinliğinin MRG ve Patolojik inceleme ile araştırılması, Uzmanlık tezi, Cumhuriyet üniversitesi Tıp fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Sivas, **2008**: 11.
5. **Sekhon LH; Fehlings MG.** Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. Spine **2001**; 26: 2-12.
6. **Karamemetoğlu SS, Unal S, Karacan I, Yılmaz H, Togay HS, Ertekin M, Dosoglu M, Ziyal MI, Kasarolu D, Hakan T:** Traumatic spinal cord injuries in İstanbul, Turkey. An epidemiological study. Paraplegia 1995;33(8):469-71.
7. **Pearse DD, Sanchez AR, Pereira FC, et al:** Transplantation of Schwann Cells and/or olfactory Survival, migration, axon association, and functional recovery. Glia **2007**; 55: 976-100.
8. **Ho CH, Wuermsler LA, Priebe MM, et al:** Spinal cord injury medicine. 1. Epidemiology and classification. Arch Phys Med Rehabil 2007,88: 49-54.
9. **Karamemetoğlu SS, Nas K, Karacan I, Sarac AJ, Koyuncu H, Ataoğlu S, Erdoğan F.**

- Traumatic spinal cord injuries in southeast Turkey:an epidemiological study. *Spinal Cord*. 1997; 35(8):531-3.
10. **Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kirnap M, Dursun H, Kalkan A, Cengiz A, Yalinkiliç A, Unalan HI, Nas K, Orkun S, Tekeoğlu.** Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord*. 2000; 38(11): 697-701.
 11. **Kaptanoğlu E. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi. Korfalı E, Zileli M.** Temel Neuroşirürji cilt 2. Ankara: Buluş Tasarım ve Matbaacılık, **2010**: 1623,1630-1632.
 12. **Wilkins RH:** Neurosurgical classics I: American Association of Neurological Surgeons. Park Ridge, II, **1992**; 1-5.
 13. **Naderi S, Acar F, Arda MN.** History of spinal disorders and Cerrahiyetülhaniye: a review of a Turkish treatise written by Serefeddin Sabuncuoğlu in 15th century. *J Neurosurg* **2002**; 96: 352-356.
 14. **Güçlü B, Naderi S.** Dünyada ve Türkiye’de Spinal Travmaların Tarihçesi. Hancı M, Çağlı S. Omurga ve Omurilik Yaralanmaları. Ankara: Buluş Tasarım ve Matbaacılık, **2007**: 4.
 15. **Tator CH, Fehlings MG:** Review of secondary injury theory of acute spinal cord trauma with special emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* **1991**; 75: 15-26.
 16. **Tator CH:** Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurosurgery* **1991**;37:291-302.
 17. **Oro JJ, Gibbs SR; Haghighi SS:** Balloon device for experimental graded spinal cord compression in the rat. *J Spinal Disord* **1999**; 12: 257-261.
 18. **Tarlov IM:** Spinal cord compression studies. III. Time limits for recovery after gradual

- compression in dogs. Arch Neurol Psychiatry **1954**; 71: 588-597.
19. **Tarlov IM, Klinger II**: Spinal cord compression studies. II. Time limits for recovery after acute compression in dogs. Arch Neurol Psychiatry **1954**; 71: 271-290
 20. **Benzel EC**: A new spinal cord injury model: A ventral compression technique. J Spinal Disorders **1990**; 4: 334-338
 21. **Fehlings MG, Tator CH, Linden RD**: The relationship among the severity of spinal cord injury, motor and sensory evoked potentials and spinal cord blood flow. Electroencephalogr Clin Neurophysiol **1989**; 74: 241-259.
 22. **Fehlings MG, Tator CH**: An evidence-based review of decompressive surgery in acute spinal cord injury; rationale, indications, and timing based on experimental and clinical studies. J Neurosurg (Spine I) **1999**; 91: 1-1.
 23. **Fehlings MG, Tator CH**: The effect of the direct current field polarity on recovery after acute experimental spinal cord injury. Brain Res **1992**; 579:32-2.
 24. **Anderson TE**: A controlled pneumatic technique for experimental spinal cord contusion. J Neurosci Meth **1982**; 6: 327-333.
 25. **Stokes BT**: An electromechanical spinal injury technique with dynamic sensitivity. J Neurotrauma **1992**; 9: 187-195.
 26. **Somerson SK, Stokes BT**: Functional analysis of an electromechanical spinal cord injury device. Exp Neurol **1987**; 96: 82-96.
 27. **Ford RW**: Reproducible spinal cord injury model in the cat. J Neurosurg **1983**; 59: 268-275.
 28. **Cheng H, Cao Y, Olsan L**: Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of

- limb fuction. Science **1996**; 273: 510-513.
29. **Chen A, Xu XM, Kleitman N, Bunge MB**: Methylprednisolone administration improves axonal regeneration into Schwann cell grafts in transected adult rat thoracic spinal cord. Exp Neurol **1996**;138: 261-276.
30. **Schwab ME, Baarholdt D**: Degeneration and regeneration of axon in the lesioned spinal cord. Physiol Rev **1996**; 76: 319-370.
31. **Matsushita A**: Spinal cord functions in postischemic rigidity in the rat. Brain Res **1970**; 19: 395-410.
32. **Sakamoto T, Monafu W, Hickey W**: Noncontusive segmental spinal cord injury sing radiofrequency current. J Trauma **1998**; 45: 345-352.
33. **Yünten N; Üstün EE**: Omurga ve omuriliğın radyolojisi. Zileli M, Özer AF(ed), Omurilik ve Omurga Cerrahisi, cilt 1, ikinci baskı, **2002**: 299-355.
34. **Watson BD, Prado R, Dietrich WD**: Photochemically induced spinal cord injury in the rat. Brain Res; **1986**; 367:296-300.
35. **Zileli M, Övül İ, Dalbastı T**: Sıçanlarda somatosensoriyel uyarılmış potansiyel monitorizasyonu. Ege Nörolojik Bilimler Der **1985**; 4:6-9.
36. **Stevan Kirshblum**, Çeviri: Erhan B, Bardak An. In: Delisa Jed-Arasıl T, Gök H, Yavuzer g; EDs. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon İlkeler ve Uygulamalar. İkinci Baskı, Ankara, GüneşTıp Yayınevi, **2007**; 1715-1751.
37. **Gençosmanoğlu BE, Hancı M**. Omurilik yaralanmalarında sınıflama. Zileli M, Özer F. Eds.

- Omurilik ve Omurga Cerrahisi. İzmir, Meta Basım Evi, **2002**; 867-880.
38. **Maynard FM Jr, Bracken MB, Creasey G, Ditunno JF Jr, Donovan WH, Ducker TB, Garber SL, Marino RJ, Stover SL, Tator CH, Waters RL, Wilberger JE, Young W.** International Standards for Neurological and Functional Classification of Spinal Cord Injury. American Spinal Injury Association. Spinal Cord. **1997**; 35(5): 266-74.
39. **Öge EA. Omurilik hastalıkları. Oge EA, Bahar ZS, Bilgic B,** Eds. Nöroloji. İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri. **2004**; 535-555.
40. **Kirshner DL, Kirshner RL, Heggeness LM, De- Weese JA:** Spinal cord ischemia: An evaluation of pharmacologic agents in minimizing paraplegia after aortic occlusion. J Vasc Surg **1989**; 9: 305-8.
41. **Gökhan Y.** Deneysel spinal kord yaralanma modelinde clopidogrel'in koruyucu ve tedavi edici etkisinin araştırılması, Tıpta Uzmanlık Tezi **2007**:13-39.
42. **LeaFebiger.** Gray's Anatomy of the Human Body-Find-in depth information on the anatomy and physiology of the human body an yahoo education. Philadelphia 1918, Newyork Bartleby.com.**2000**.
43. **Taner D.** Fonksiyonel Nöroanatomi. İkinci Baskı. Ankara: Metu pres; **1999**;33-48.
44. **Sturzenegger M.** Spinal stroke syndromes (ed). Bogousslavsky J, Caplan L. Stroke syndromes. Cambridge University pres. Second Edition, **2000**; 691-704.
45. **Netter FH:** Beyin ve Omuriliğin anatomisi; The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders, **2007**; 36-66.

46. **Ersoy M, Kalkan A:** Anatomy and tracts of spinal cord. J. Med. Sci. **1996;** 16:199-205.
47. **Berk H:** Spine anatomy. J. Med. Surg. Sci. **2006;** 2(30):1-4.
48. **Snell RS:** Medulla spinalis, Klinik Nöroanatomi, Lipicott-Williams & Wilkins/Nobel, İstanbul, **2000;** 157-177.
49. **Vacaro AR:** Spine Anatomy. In: Garfin SR, Vaccaro AR(ed): Orthopedic Knowledge Update Spine. American Acedemy of Orthopedic Surgery, **1997;** 3-17.
50. **Terman GW, Bonica JJ.** Spinal mechanisms and their modulation. In:Loeser JD, editor. Bonica's management of pain. 3rd ed. Philadelphia; Lippincott Williams &Wilkins; **2001;** 75-152.
51. **Dommissie G.F.** The blood supply of the spinal cord. A critical vascular zon in spinal surgery. J. Bone. Joint. Surgery. **1974;** 56:225-35.
52. **Ekmekçi H.** Spinal kord yaralanma modelinde ambroksol hidroklorürün morfolojik ve ultrastrüktürel etkisi Tıpta Uzmanlık Tezi. **2007;** 16-23.
53. **Netter FH.** The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: BrassA, Elsevier Saunders **2007;** 36-66.
54. **Baptiste DC; Fehlings MG:** Pharmacological approaches to repair the injured spinal cord. J Neurotruma **2006;** 23:318-334.
55. **Bunge RP, Puckett WR, Becerra JL;** et al: Observations n the pathology of human spinal cord injury. A review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. Adv Neurol **1993;** 59:75-89.

56. **McDonald JW, Belegu V:** Demyelination and remyelination after spinal cord injury. *J Neurotrauma* **2006**; 23:345-359.
57. **Nashmi R, Fehlings MG:** Role of voltage-gated K⁺ channels in the pathophysiology of spinal cord injury. *Modulator* **2001**; 14: 5-9.
58. **Nashmi R, Fehlings MG:** Mechanisms of axonal dysfunction after spinal cord injury: with an emphasis on the role of voltage-gated potassium channels. *Brain Res Brain Res Rev* **2001**; 38:165-191.
59. **Radojicic M, Reier PJ, Steward O, et al:** Septations in chronic spinal cord injury cavities contain axons. *Exp Neurol* **2005**; 196: 339-341.
60. **Fehlings MG:** Summary statements: the use of methylprednisolone in acute spinal cord injury. *Spine* **2001**; 26:S55.
61. **Kakulas BA:** Neuropathology: the foundation for new treatments in spinal cord injury. *Spinal Cord* **2004**; 4:549-563.
62. **Ditunno JF, Little JW, Tessler A, et al:** Spinal shock revisited: a four-phase model. *Spinal Cord* **2004**; 42:383-395.
63. **Tator CH, Koyanagi I:** Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. *J Neurosurg* **1997**; 86:483-492.
64. **Pineau I, Lacroix S.** Proinflammatory cytokine synthesis in the injured mouse spinal cord: multiphasic expression pattern and identification of the cell types involved. *J Comp Neurol* **2007**;500:267-285.
65. **Wrathall JR, Teng Y, Choiniere D, Mundt D.** Evidence that local non-NMDA receptors contribute to functional deficits in contusive spinal cord injury. *Brain Res* **1992**; 586:140-

143.

66. **Wrathall JR, Teng YD, Choiniere D.** Amelioration of functional deficits from spinal cord trauma with systemically administered NBQX, an antagonist of non-N-methyl-D-aspartate receptors. *Exp Neurol* **1996**; 137:119-126.
67. **Nashmi R, Fehlings MG:** Changes in axonal physiology and morphology after chronic compressive injury of the rat thoracic spinal cord. *Neuroscience* **2001**; 104:235-251.
68. **Stys PK, Waxman SG, Ransom BR.** Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian spinal CNS white matter: Role of Na⁺ channels and Na⁺-Ca⁺⁺ exchanger. *J Neurosci* **1992**; 12:430-439.
69. **Guha A, Tator CH, Piper I:** Increase in rat spinal cord blood flow with the calcium channel blocker, nimodipine. *J Neurosurg* **1985**; 63:250-259.
70. **Ross IB, Tator CH.** Further studies of nimodipine in experimental spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* **1991**; 8: 229-238.
71. **Lucas JH, Wavg GF, Gross GW:** NMDA antagonists prevent hypothermic injury and death of mammalian spinal neurons. *J Neurotrauma* **1990**;7:229-236.
72. **Suzer T, Coskun E, Islekel H, Tahta K.** Neuroprotective effect of magnesium on lipid peroxidation and axonal function after experimental spinal cord injury. *Spinal Cord* **1999**; 37:480-484.
73. **Delbarre B, Floyd RA, Delbarre G, Calinon F:** Glutamate accumulation and increased hydroxyl free radical formation in the abdominal aorta and heart of gerbil after ischemia/reperfusion insult. *Free Rad Biol Med* **1992**; 13:31-34.
74. **Young W, Huang P, Kume Kick.** Cellular, ionic, and biomolecular mechanisms of the

injury process: Editörler: Benzel EC, Tator CH. **1995**; Bölüm 4, Sayfa 27-42, AANS, Illinois.

75. **Hall ED, Braugher JM.** Effects of intravenous methylprednisolone on spinal cord lipid peroxidation and (Na⁺,K⁺)-ATPase activity. Dose-response analysis during the 1st hour after contusion injury in the cat. *J Neurosurg* **1982**; 57: 247-253.
76. **Bracken MB, Shepard M, Holford TR,** et al. Methylprednisolone or tirilazad mesilate administration after acute spinal cord injury: 1- year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury Randomized controlled trial. *J Neurosurg* **1998**; 89:699-706.
77. **Giulian D, Robertson C.** Inhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord. *Ann Neurol* **1990**; 27:33-42.
78. **Kaptanoğlu E, Tuncel M, Palaoğlu S, Konan A, Demirpençe E, Kılınc K:** Comparison of the effects of melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *J Neurosurgery (Spine 1)* **2000**; 93:77-84.
79. **Kaptanoğlu E, Şen S, Beşkonaklı E, Sürücü S, Tuncel M, Kılınc K, Taşkın Y:** Antioxidant actions and early ultrastructural findings of thiopental and propofol in experimental spinal cord injury. *J Neurosurgical Anesthesiology* **2002**; 14(2):114-122.
80. **Kaptanoğlu E, Palaoğlu S, Demirpençe E, Akbiyık F, Solaroğlu İ, Kılınc A:** Different responsiveness of central nervous system tissues oxidative conditions and to the antioxidant effect of melatonin. *J Pineal Research* **2002**; 33:1-4.
81. **Kaptanoğlu E, Solaroğlu I, Okutan O, Surucu HS, Akbiyık F, Beskonakli E:** Erythropoietin exerts neuroprotection after acute spinal cord injury in rats: effect on lipid peroxidation and early ultrastructural findings. *Nerosurg Rev* 2004; 27:113-120.
82. **Balentine JD:** Pathology of experimental spinal cord trauma. *Lab Invest* 3 **1978**; 9:236-253.

83. **Katoh S, Ikata T, Tsuba M, Hamada Y, Masry MSE:** Possible implication of leukocytes in secondary pathological changes after spinal cord injury. *Injury* **1997**; 28:215-217.
84. **Tator CH, Kaptanoğlu E:** Yaralanmış omurılığın rejenerasyonu (Rejenation of the injured spinal cord). *Omurilik ve omurga cerrahisi*. Editörler: M. Zileli, F.Özer. İzmir ,**2002**; 65: 841-866.
85. **Kaptanoğlu E, Beşkonaklı E, Solaroğlu İ, Kılınç A, Taşkın Y:** Magnesium sulphate treatment in experimental spinal cord injury: Emphasis on vascular changes and early clinical results. *Neurosurg Review* **2003**; 26:283-287.
86. **Taoka Y, Okajima K:** Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* **1998**; 56:341-358.
87. **Crowe MJ, Breshnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS:** Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med* **1997**; 1:73-76.
88. **Emery E, Aldana P, Bunge MB:** Apoptosis after human spinal cord injury. *J Neurosurgery* **1999**; 89:911-920.
89. **Shuman SL, Breshnahan JC, Beattie MS.** Apoptosis of microglia and oligodendrocytes after spinal cord contusion in rats. *J Neurosci Res* **1997**; 50:798-808.
90. **Springer JE, Azbill RD, Knapp PE:** Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in spinal cord injury. *Nature Med* **1999**; 5:943-946.
91. **Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, et al:** Apoptotic and antiapoptotic mechanisms following spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol* **2001**;60:422-429.
92. **Citron BA, Arnold PM, Sebastian C, et al:** Rapid upregulation of caspase-3 in rat spinal cord after injury: mRNA, protein and cellular localization correlates with apoptotic cell

- death. *Exp Neural* **2000**; 166:213-226.
93. **Bethea RJ, Nagashima H, Acosta MC**: Systemically administered interleukin-10 reduces tumor necrosis factor alpha production and significantly improves functional recovery following traumatic spinal cord.
94. **Casha S, Yu WR, Fehlings MG**: FAS deficiency reduces apoptosis, spares axons and improves function after spinal cord injury. *Exp Neural* **2005**; 196:390-400.
95. **Casha S, Yu WR, Fehlings MG**: Oligodendroglial apoptosis occurs along degenerating axons and is associated with FAS and p75 expression following spinal cord injury in the rat. *Neuroscience* **2001**; 103:203-218.
96. **Nagata S, Golstein P**: The Fas death factor. *Science* **1995**; 267:1449-1456.
97. **Basic A, Colangelo AM, Vicini S, et al** : Interleukin-10 prevents glutamate-mediated cerebellar granule cell death by blocking caspase-3-like activity. *J Neurosci* **2001**; 21:3104-3112.
98. **Hagg T, Oudega M**: Degenerative and spontaneous regenerative processes after spinal cord injury. *J Neurotrauma* **2006**; 23: 264-280.
99. **McDonald JW, Becker D, Sadowsky CL, et al**: Late recovery following spinal cord injury. Case report and review of the literature. *J Neurosurg* **2002**; 97:252-265.
100. **Beattie MS, Bresnahan JC, Komon J, Tovar CA, Meter M, Anderson DK, Faden AI, Hsu CY, Noble LJ, Salzman S, Young W**: Endogenous repair after spinal cord contusion injuries in the rat. *Exp Neurol* **1997**;148:453-463.
101. **Namiki J, Tator CH**: Cell proliferation and nestin expression in the ependyma of the adult rat spinal cord after injury. *J Neurol* **1999**; 58:489-498.

102. **Kayaalp SO**: Tıbbi farmakoloji . **2009**; 347-348.
103. **Braugler JM**. Methylprednisolone in experimental spinal kord injury.
J Neurosurgery . **1987**; 67:102-5.
104. **Fırat T**. Deneysel oluşturulan medulla spinalisz zedelenmesinde agmatin, metilprednizolon ve rapamisin'in tedavi edici etkilerinin ışık, elektron mikroskopik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesi, uzmanlık tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji anabilimdalı, Bolu, **2010**, 27-31s.
105. **Priebe MM, Chiodo AE, Scelza WM** et al: Spinal cord injury medicine. 6. Economic a societal issues in spinal cord injury. Arch Phys Med Rehabil 88:S84-88,**2007**.
106. **Kayaalp O**. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji, 10.baskı, Hacettepe Taş Kitabevi, **2002**:420-422.
107. **Rao, A., Luo, C., Hogan, P.G., 1997**. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function. Annu. Rev. Immunol. 15, 707–747.
108. **Chao Gong, Julian T. Hoff, Richard F. Keep**. Acut inflammatory reactionfollowing experimental intracerebral hemorrhage in rat. Brain Research **2000**; 871:57-65.
109. **Iadecola C, Foster C, Nogawa S**, Cyclooxygenase immunoreactivity in the human brain following cerebral ischemia. Acta Neuropathol **1999**;98:9-14.
110. **Choi, H.B., Khoo, C., Ryu, J.K., van Breemen, E., Kim, S.U., McLarnon, J.G., 2002**. Inhibition of lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2, tumor necrosis factor-alpha and [Ca²⁺]_i responses in human microglia by the peripheral benzodiazepine receptor ligand PK11195. J. Neurochem. 83, 546–555.

111. **Lockhart, B.P., Cressey, K.C., Lepagnol, J.M., 1998.** Suppression of nitric oxide formation by tyrosine kinase inhibitors in murine N9 microglia. *Br. J. Pharmacol.* 123, 879–889.
112. **Shimizu, T., Imai, H., Seki, K., Tomizawa, S., Nakamura, M., Honda, F., Kawahara, N., Saito, N., 2005.** Cyclophilin C-associated protein and cyclophilin C mRNA are upregulated in penumbral neurons and microglia after focal cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 25, 325–337.
113. **Sawada, M., Suzumura, A., Marunouchi, T., 1992.** Down regulation of CD4 expression in cultured microglia by immunosuppressants and lipopolysaccharide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 189, 869–876.
114. **Jayakumar, A.R., Panickar, K.S., Norenberg, M.D., 2002.** Effects on free radical generation by ligands of the peripheral benzodiazepine receptor in cultured neural cells. *J. Neurochem.* 83, 1226–1234.
115. **Pyrzynska, B., Lis, A., Mosieniak, G., Kaminska, B., 2001.** Cyclosporin A sensitive signaling pathway involving calcineurin regulates survival of reactive astrocytes. *Neurochem. Int.* 38, 409–415.
116. **Gabryel, B., Labuzek, K., Malecki, A., Herman, Z.S., 2004.** Immunophilin ligands decrease release of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF α and IL-2 in rat astrocyte cultures exposed to simulated ischemia in vitro). *Pol. J. Pharmacol.* 56, 129–136.
117. **Shiga, Y., Onodera, H., Matsuo, Y., Kogure, K., 1992.** Cyclosporin A protects against ischemia-reperfusion injury in the brain. *Brain Res.* 595, 145–148.
118. **Miyata, K., Omori, N., Uchino, H., Yamaguchi, T., Isshiki, A., Shibasaki, F., 2001.** Involvement of the brain-derived neurotrophic factor/TrkB pathway in neuroprotective effect of cyclosporin A in forebrain ischemia. *Neuroscience* 105, 571–578.
119. **Uchino, H., Elmer, E., Uchino, K., Lindvall, O., Siesjo, B.K., 1995.** Cyclosporin A

dramatically ameliorates CA1 hippocampal damage following transient forebrain ischaemia in the rat. *Acta Physiol. Scand.* 155, 469–471.

120. **Wakita, H., Tomimoto, H., Akiguchi, I., Kimura, J., 1995.** Protective effect of cyclosporin A on white matter changes in the rat brain after chronic cerebral hypoperfusion. *Stroke* 26, 1415–1422.
121. **Teichner, A., Morselli, E., Buttarelli, F.R., Caronti, B., Pontieri, F.E., Venturini, G., Palladini, G., 1993.** Treatment with cyclosporine A promotes axonal regeneration in rats submitted to transverse section of the spinal cord. *J. Hirnforsch.* 34, 343–349.
122. **Palladini, G., Caronti, B., Pozzessere, G., Teichner, A., Buttarelli, F.R., Morselli, E., Valle, E., Venturini, G., Fortuna, A., Pontieri, F.E., 1996.** Treatment with cyclosporine A promotes axonal regeneration in rats submitted to transverse section of the spinal cord. II Recovery of function. *J. Hirnforsch.* 37, 145–153.
123. **Buki, A., Okonkwo, D.O., Povlishock, J.T., 1999.** Postinjury cyclosporin A administration limits axonal damage and disconnection in traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 16, 511–521.
124. **Okonkwo, D.O., Povlishock, J.T., 1999.** An intrathecal bolus of cyclosporin A before injury preserves mitochondrial integrity and attenuates axonal disruption in traumatic brain injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 19, 443–451.
125. **Diaz-Ruiz, A., Rios, C., Duarte, I., Correa, D., Guizar-Sahagun, G., Grijalva, I., Ibarra, A., 1999.** Cyclosporin-A inhibits lipid peroxidation after spinal cord injury in rats. *Neurosci. Lett.* 266, 61–64.
126. **Rabchevsky, A.G., Fugaccia, I., Sullivan, P.G., Scheff, S.W., 2001.** Cyclosporin A treatment following spinal cord injury to the rat: behavioral effects and stereological assessment of tissue sparing. *J. Neurotrauma* 18, 513–522.

127. **Ibarra, A., Hauben, E., Butovsky, O., Schwartz, M., 2004.** The therapeutic window after spinal cord injury can accommodate T cell-based vaccination and methylprednisolone in rats. *Eur. J. Neurosci.* 19, 2984–2990.
128. **Lu, HZ; Wang YX; Zhou, JS; Wang FC; Hu, JG.** Cyclosporin A increases recovery after spinal cord injury but does not improve myelination by oligodendrocyte progenitor cell transplantation *BMC Neuroscience* **2010**, 11:127.
129. **Alessandri et al., 2002Alessandri, B., Rice, A.C., Levasseur, J., DeFord, M., Hamm, R.J., Bullock, M.R., 2002.** Cyclosporin A improves brain tissue oxygen consumption and learning/memory performance after lateral fluid percussion injury in rats. *J. Neurotrauma* 19, 829–841.
130. **Capano, M., Virji, S., Crompton, M., 2002.** Cyclophilin-A is involved in excitotoxin-induced caspase activation in rat neuronal B50 cells. *Biochem J.* 363, 29–36.
131. **Sheehan, J., Eischeid, A., Saunders, R., Pouratian, N., 2006.** Potentiation of neurite outgrowth and reduction of apoptosis by immunosuppressive agents: implications for neuronal injury and transplantation. *Neurosurg. Focus* 20,E9.
132. **Schneider-Gold, C., Hartung, H.P., Gold, R., 2006.** Mycophenolate mofetil and tacrolimus: new therapeutic options in neuroimmunological diseases. *Muscle Nerve* 34, 284–291.
133. **Dzenan L., Jack B, Cate B.E., Harry v. L., Cesar V. B.,** a Review of laboratory and Clinical Data Supporting the safety and Efficacy of cyclosporin A in Traumatic Brain Injury. **2011.** *Neurosurgery* 68, 1172-1185.
134. **Hailer N P.** Immunosuppression after traumatic or ischemic CNS damage: It is neuroprotective and illuminates the role of microglial cells *Progress in Neurobiology* 84 :**2008.** 211–233.

EKLER



T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu

Sayı :B.30.2.ABÜ.0.05.05-050.01.04- 252


19/12/2012

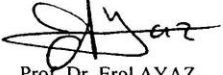
Konu: Kararlar.

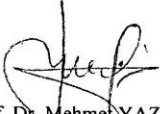
Sayın; Doç. Dr. Ali Rıza GEZİCİ

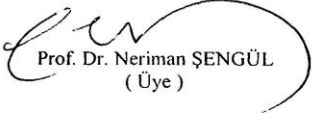
A.İ.B.Ü Tıp Fakültesi
Nöroşirurji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi

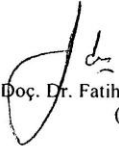
Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu tarafından 2012/54 no. "Deneysel rat omuriliği yaralanma modelinde siklosporinin tedavi edici ve koruyucu etkilerinin değerlendirilmesi" isimli çalışmanız etik olarak uygun bulunmuştur.


Prof. Dr. Aysel KÜKNER
(Başkan)



Prof. Dr. Erol AYAZ
(Üye)

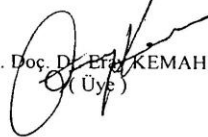

Prof. Dr. Mehmet YAZICI
(Üye)

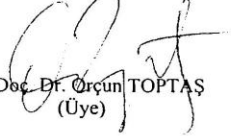

Prof. Dr. Neriman ŞENGÜL
(Üye)

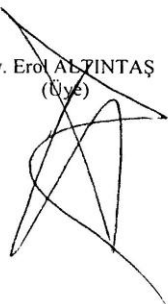

Doç. Dr. Fatih DEMİRCİOĞLU
(Üye)

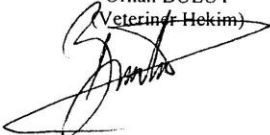
Doç. Dr. Alper KARAKAŞ
(Üye)


Doç. Dr. Serkan ÇAKIR
(Üye)


Yrd. Doç. Dr. Ergül KEMAHLI
(Üye)


Yrd. Doç. Dr. Orçun TOPTAŞ
(Üye)


Av. Erol ALZINTAŞ
(Üye)


Orhan BULUT
(Veteriner Hekim)

Adres : Abant İzzet Baysal Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu 14280 Gölköy / BOLU
Telefon : 0374 253 45 68 Fax : 0374 253 45 59

