



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA TRAVMATİK OMURİLİK HASARI ÜZERİNE
THYMBRA SPİCATA L. VAR SPİCATA VE CYCLOTRİCHİUM
ORİGANİFOLIUM' UN TEDAVİ ETKİSİNİN DENEYSEL
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Figen KOÇ DİREK
DOKTORA TEZİ**

ANATOMİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Cudi TUNCER**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA TRAVMATİK OMURİLİK HASARI ÜZERİNE
THYMBRA SPİCATA L. VAR SPİCATA VE CYCLOTRİCHİUM
ORİGANİFOLIUM' UN TEDAVİ ETKİSİNİN DENEYSEL
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Figen KOÇ DİREK
DOKTORA TEZİ**

ANATOMİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Cudi TUNCER**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Anatomi Anabilim Dalı** doktora öğrencisi **Figen KOÇ DİREK**'in hazırladığı “**Sıçanlarda Travmatik Omurilik Hasarı Üzerine Thymbra Spicata L. Var Spicata Ve Cyclotrichium Origanifolium’ un Tedavi Etkisinin Deneysel Olarak Araştırılması**” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : .../.../2021

Danışman: **Prof. Dr. M. Cudi TUNCER**

Jüri üyeleri

İmza

Jüri başkanı	
Üye	
Üye	
Üye	
Üye	

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun .../.../... ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

... /.../...

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

...../...../2021

Figen KOÇ DİREK

İmza

TEŞEKKÜR

Çalışmam süresince tez danışmanlığımı üstlenerek tüm yaşam deneyimlerini ve bilgi birikimini paylaşan, desteklerini esirgemeyen sayın danışman hocam Prof. Dr. M. Cudi TUNCER’e

Çalışmamın sürdürülmesi ve sonuçlandırılmasında bana yol göstererek, bilimsel manevi destekleri ve anlayışlarını hiç esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Engin DEVECİ’ye

Doktora eğitimimin en zorlu süreçlerinde yanımda olan mücadele etmenin ve dik duruşun ne demek olduğunu öğrendiğim değerli hocam Prof. Dr. E. Savaş HATİPOĞLU’na,

Tez çalışmamda istatistiksel analizleri büyük bir sabır ve özveriyle yapan değerli arkadaşım Rezan AZİZOĞLU’na

Zamanını, ilgisini ve tecrübelerini paylaşarak pratik bilgisiyle bu süreci keyifli kılan değerli arkadaşım Araştırma görevlisi Fırat AŞIR’a

Hayatım boyunca tüm süreçlerde yanımda olan, bu günlere ulaşmamı sağlayan beni daima destekleyen çok kıymetli ablam Filiz KOÇ’ a ve aileme,

Sabrı anlayışı ve hoşgörüsüyle her zaman yanımda olacağına inandığım, bana güç veren, yol arkadaşım, sevgili eşim Bayram DİREK ‘e

Kendilerinden çalmak zorunda kaldığım zamanı büyük bir olgunlukla karşılayan canım oğlum ve kızıma sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (DÜBAP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: TIP.19.023)

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA ve SİMGELER LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
RESİMLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
1. ÖZET	1
1.1. TÜRKÇE ÖZET	1
1.2. ABSTRACT	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER.....	7
3.1. Omurilik Travmasının Tarihçesi	7
3.2. Spinal Kord ile İlgili Temel Bilgiler	9
3.2.1. Spinal Kord Embriyolojisi	9
3.2.2. Spinal Kord Anatomisi.....	10
3.2.3. Spinal Kordun Vasküler Yapısı	15
3.3. Omurilik Yaralanmalarının Epidemiyolojisi.....	16
3.4. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi.....	17
3.4.1. Birincil Yaralanma	17
3.4.2. İkincil Yaralanma.....	17
3.4.2.1. Vasküler değişiklikler	19
3.4.2.2. Spinal Şok	20
3.4.2.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Lipid Peroksidasyonu.....	20
3.4.2.4. İnflamasyon ve Oksidatif Stres.....	21
3.4.2.5. İyonik Değişiklikler	22
3.4.2.6. Nekroz ve Apoptoz	23
3.5. Antioksidan Tedavi	24
3.5.1. Thymbra spicata L. var. Spicata (Zahter).....	25

3.5.2. <i>Cyclotrichium origanifolium</i> (Dağ nanesi)	26
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
4.1. Deney Hayvanları	28
4.1.1. Sıçan torakal spinal travma modelini gösteren şematik resimler.....	30
4.2. Bitki Örnekleri ve Uçucu Yağlarının Elde Edilmesi	33
4.3. Biyokimyasal Analiz	33
4.3.1. Serum MDA Ölçümü	34
4.3.2. Serum TAS Ölçümü	34
4.3.3. Serum TOS Ölçümü	34
4.4. Doku Takibi.....	34
4.5. Hematoksilen-Eozin Boyama	35
4.6. İmmunohistokimyasal Boyama	35
4.7. İstatistiksel Analiz	36
5. BULGULAR.....	37
5.1. İstatistiksel veriler.....	37
5.2. Serumda bakılan biyokimyasal parametreler	37
5.3. Hematoksilen Eozin Boyamaları	39
5.4. Hematoksilen Eozin boyaması	42
5.5. Spinal kord dokusunun immunohistokimya boyamaları	43
5.5.1. VEGF İmmunohistokimya Boyamaları	43
5.5.2. GFAP İmmunohistokimya Boyamaları.....	46
5.5.3. N-Cadherin İmmunohistokimya Boyamaları	49
5.5.4. S100 İmmunohistokimya Boyamaları.....	53
6. TARTIŞMA.....	57
7. SONUÇ.....	65
8. KAYNAKÇA.....	66
9. ÖZGEÇMİŞ.....	82
10. EKLER.....	84
10.1. Yayınlanan makale.....	84
10.2. Etik Kurul İzin Belgesi	85
11. ORJİNALLİK RAPORU	86

KISALTMA ve SİMGELER LİSTESİ

a	: Arteria
ATP	: Adenozin Trifosfat
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
Ca	Kalsiyum
eNOS	: endotelial nitrik oksit sentezi
GFAP	: Glial Fibriler Asidik Protein
K	: Potasyum
lig	: Ligamentum
LP	: Lipid peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
Na	: Sodyum
Na₂SO₄	: Sodyum sülfat
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TOS	: Total Oksidan Seviye
VEGF	: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Spinal kord embriyolojisi.....	10
Şekil 3.2. Spinal kord anatomisi.....	11
Şekil 3.3. Spinal sinirler	12
Şekil 3.4. Spinal kord zarları	13
Şekil 3.5. Spinal kordun transvers kesiti	15
Şekil 5.1. Grupların serum MDA değerleri.....	37
Şekil 5.2. Grupların serum TAS değerleri.....	38
Şekil 5.3. Grupların serum TOS değerleri.....	38
Şekil 5.4. Kontrol grubu Hematoksilen Eozin boyaması	39
Şekil 5.5. Zahter grubu Hematoksilen Eozin boyaması	40
Şekil 5.6. Dağ nanesi grubu Hematoksilen Eozin boyaması.....	40
Şekil 5.7. Travma grubu Hematoksilen Eozin boyaması	41
Şekil 5.8. Travma+zahter grubu Hematoksilen Eozin boyaması	41
Şekil 5.9. Travma+dağ nanesi grubu Hematoksilen Eozin boyaması	42
Şekil 5.10. Kontrol grubu VEGF immunohistokimya boyaması	43
Şekil 5.11. Zahter grubu VEGF immunohistokimya boyaması	43
Şekil 5.12. Dağ nanesi grubu VEGF immunohistokimya boyaması	44
Şekil 5.13. Travma grubu VEGF immunohistokimya boyaması	44
Şekil 5.14. Travma+zahter grubu VEGF immunohistokimya boyaması	45
Şekil 5.15. Travma+dağ nanesi grubu VEGF immunohistokimya boyaması	45
Şekil 5.16. Kontrol grubu GFAP immunohistokimya boyaması.....	46
Şekil 5.17. Zahter grubu GFAP immunohistokimya boyaması	47
Şekil 5.18. Dağ nanesi grubu GFAP immunohistokimya boyaması	47
Şekil 5.19. Travma grubu GFAP immunohistokimya boyaması.....	48
Şekil 5.20. Travma+zahter grubu GFAP immunohistokimya boyaması.....	48
Şekil 5.21. Travma+dağ nanesi grubu GFAP immunohistokimya boyaması	49
Şekil 5.22. Kontrol grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması.....	50
Şekil 5.23. Zahter grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması.....	50
Şekil 5.24. Dağ nanesi grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması.....	51
Şekil 5.25. Travma grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması.....	51
Şekil 5.26. Travma+zahter grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması.....	52

Şekil 5.27. Travma+dağ nanesi grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması	52
Şekil 5.28. Kontrol grubu S100 immunohistokimya boyaması	53
Şekil 5.29. Zahter grubu S100 immunohistokimya boyaması	54
Şekil 5.30. Dağ nanesi grubu S100 immunohistokimya boyaması.....	54
Şekil 5.31.Travma grubu S100 immunohistokimya boyaması	55
Şekil 5.32. Travma+zahter grubu S100 immunohistokimya boyaması	55
Şekil 5.33. Travma+dağ nanesi grubu S100 immunohistokimya boyaması	56



RESİMLER LİSTESİ

Resim 4.1.Sıçanın prone pozisyonunda yerleştirilmesi	30
Resim 4.2. Sıçanlarda tam kesi oluşturulması ve paravertebral kasları ayırma	31
Resim 4.3. Ratlarda laminektomi sonrası medulla spinalisin ortaya çıkarılması.....	32
Resim 4.4. Ağırlık düşürülerek omurilik hasarı oluşturulması	32
Resim 4. 5. İnsizyonun primer sutureasyon	33



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Omurilik yaralanmasında ikincil yaralanma mekanizmaları	19
--	----



1. ÖZET

Sıçanlarda Travmatik Omurilik Hasarı Üzerine Thymbra Spicata L. Var Spicata ve Cyclotrichium Origanifolium' un Tedavi Etkisinin Deneysel Olarak Araştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Figen KOÇ DİREK

Danışmanı: Prof. Dr. M. Cudi TUNCER

Anabilim Dalı: Anatomi

1.1. TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Bu çalışmada spinal kord yaralanmasında oluşan hasar mekanizmaları üzerine Thymbra spicata L. var. spicata (zahter) ve Cyclotrichium origanifolium' un (dağ nanesi) potansiyel tedavi edici ve koruyucu etkisi araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 36 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Her bir grupta 6 adet olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. 1.Grup; kontrol, 2.Grup; zahter, 3.Grup; dağ nanesi, 4.Grup; travma, 5.Grup; travma +zahter, 6.Grup; travma+dağ nanesi olacak şekilde oluşturuldu. Travma gruplarına spinal kord üzerine ağırlık düşürme metodu (Allen) uygulanarak travma oluşturuldu. Bir haftanın sonunda bütün sıçanlar Ketamin anestezisi altında kardiyak ponksiyonla kan örnekleri alındıktan sonra feda edilerek omurilik dokusu alındı. Dokuda histopatolojik ve immunohistokimyasal değişiklikler incelendi. immunohistokimyasal incelemede; Vascular endothelial growth factor (VEGF), Glial fibriler asidik protein (GFAP)), N-Cadherin, S-100 proteinine bakıldı. Biyokimyasal olarak serumda MDA, TAS, TOS değerleri ölçüldü.

Bulgular: Omurilik dokusunun gruplara göre histopatolojik incelemesi sonucu travma grubunda, multipolar nöron hücrelerinde dejenerasyon, kanalis centralis, substansiya grisea/alba bölgelerinde doku bütünlüğünün bozulduğu gözlemlendi. Travma+zahter ve travma+dağ nanesi gruplarında spinal hasarın büyük ölçüde iyileştiği, medulla spinalisin normal histolojik görünümüne döndüğü ancak iyileşmenin travma+zahter grubuna göre travma+dağ nanesi grubunda daha fazla olduğu gözlemlendi.

immunohistokimyasal incelemede VEGF, GFAP, ekspresyonu Travma grubunda yoğun izlenirken travma+zahter ve travma+dağ nanesi gruplarında ekspresyon düzeylerinde azalma gözlemlendi. Nöron hasarı üzerinde olumlu etkileri görülen ekstraktlardan dağ nanesinin iyileştirici etkisinin daha yoğun olduğu izlendi. Dağ nanesi ve zahterin N-cadherin ekspresyonu üzerinde bir etkisi görülmedi. Travma grubunda hafif düzeyde S100 proteini ekspresyonu gözlemlendi. Travma+zahter grubunda ve travma+dağ nanesi grubunda S100 ekspresyonu daha yoğun olarak izlendi. Biyokimyasal parametrelerde Serum MDA ve TOS düzeylerinin travma grubunda diğer gruplara göre arttığı ($p < 0.05$), travma+zahter ve travma+dağ nanesi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azaldığı görüldü ($p > 0.05$). Serum TAS düzeyi travma grubunda artarken travma+zahter ve travma+dağ nanesi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azaldığı görüldü ($p > 0.05$).

Sonuç: Dağ nanesi ve zahterin travma sonrası oluşan omurilik hasarında Oksidatif stres, nöronal hücre büyümesi ve inflamatuvar yanıtı düzenleyerek hasarın etkilerini kısmen azalttığı, dağ nanesinin zahtere göre etkinliğinin daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: : Spinal kord hasarı, Antioksidan, Zahter, Dağ nanesi

Experimental Investigation of Treatment Effect of *Thymbra Spicata* L. Var *Spicata* and *Cyclotrichium Origanifolium* (Mountain mint) on Traumatic Spinal Cord Injury in Rats

Student's Surname and Name: Figen KOÇ DİREK

Advisor: Prof. Dr. M. Cudi TUNCER

Department: Anatomy

1.2. ABSTRACT

Aim: In this study, it was aimed to investigate the potential therapeutic and protective effects of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* (zahter) and *Cyclotrichium origanifolium* (mountain mint) on the damage mechanisms in spinal cord injury.

Materials and Methods: 36 Wistar Albino male rats, weighing between 250-300 g, were divided into 6 groups with 6 in each. Group 1; control, Group 2; zahter, Group 3; mountain mint, Group 4; trauma, Group 5; trauma + zahter Group 6; trauma + mountain mint. Trauma was created by applying weight reduction method (Allen) on the spinal cord in trauma groups. At the end of one week, all rats were sacrificed after blood samples were taken by cardiac puncture under ketamine anesthesia, and spinal cord tissue was taken. Histopathological and immunohistochemical changes in the tissue were examined. In immunohistochemical examination; Vascular endothelial growth factor (VEGF), Glial fibrillary acidic protein (GFAP), N-Cadherin, S-100 protein were examined. Biochemically, MDA, TAS, TOS values were measured in serum.

Results: As a result of the histopathological examination of the spinal cord tissue according to the groups, degeneration of multipolar neuron cells, disruption of tissue integrity in the canalis central, substantia grisea/alba regions were observed in the trauma group. It was observed that spinal injury healed to a great extent in the trauma+zahter and trauma+mountain mint groups, the spinal cord returned to its normal histological appearance, but the recovery was higher in the trauma+mountain

mint group compared to the trauma+zahter group. In the immunohistochemical examination, the expression of VEGF, GFAP was observed intensely in the trauma group, while a decrease was observed in the expression levels in trauma+zahter and trauma+mountain mint. It was observed that the healing effect of mountain mint was more intense from the extracts with positive effects on neuron damage. Mountain mint and zahter had no effect on N-cadherin expression. S100 protein expression was observed mild in the trauma group. S100 expression was more intense in the trauma+zahter group and the trauma+mountain mint group. In biochemical parameters, serum MDA and TOS levels increased in the trauma group compared to the other groups ($p < 0.05$), and decreased in the trauma+zahter and trauma+mountain mint groups, although it was not statistically significant ($p > 0.05$). While the serum TAS level increased in the trauma group, it was found to decrease in the trauma+zahter and trauma+mountain mint groups, although it was not statistically significant ($p > 0.05$).

Conclusion: It has been determined that mountain mint and zahter partially reduce oxidative stress, neuronal cell growth and inflammatory response after trauma in spinal cord injury, and mountain mint is more effective than zahter.

Keywords: Spinal cord injury, Antioxidant, Zahter, Mountain mint

2. GİRİŞ ve AMAÇ

Omurilik hasarı toplumu sosyal, psikolojik, fiziksel ve ekonomik anlamda olumsuz etkileyen önemli bir nörolojik sorun olmasının yanında dünyada kabul gören kesin bir tedavi protokolünün olmaması nedeniyle hala ciddi bir sorun olmaya devam etmektedir. Tıpta son gelişmeler omurilik yaralanması geçiren hastaların teşhisini, stabilizasyonunu, hayatta kalma oranını ve refahını önemli ölçüde iyileştirirken, tedaviye yönelik istenilen düzeyde ilerleme kaydedilmemiştir.

Omurilik hasarının karmaşık olduğu; birincil ve ikincil yaralanma olarak iki aşamadan oluştuğu yapılan deneysel çalışmalarla belirlenmiştir (1, 2). Birincil hasar dış etkenlere bağlı olarak akson ve nöronların parçalanması sonucu oluşurken, İkincil yaralanma, birincil yaralanmayı takip eden dakikalar içinde başlar ve zamanla lezyon bölgesini çevreleyen omurilik dokusunda ilerleyici hasara neden olur (3). İkincil yaralanma vasküler hasar, iyon dengesizliği, nörotransmitter birikimi (eksitotoksisite), serbest radikal oluşumu, kalsiyum akışı, lipid peroksidasyon, inflamasyon, ödem ve nekrotik hücre ölümü gibi değişikliklere yol açarak omurilik dokusuna zarar verir (4). Yapılan çalışmalar travma sonrası oluşan ikincil hasarın önlenmesine ve azaltılmasına odaklanmıştır.

Omurilik yaralanması olan hastalarda tıbbi komplikasyonları hafifletmek, yaşam süresini uzatmak ve yaşam kalitesini artırmak için birçok tedavi yaklaşımı araştırılmıştır. Kombine ilaç kullanımı yerine hasar mekanizmalarını önlemeye yönelik yan etkileri daha az olan ajanlarla çalışmanın spinal kord yaralanması tedavisine yön göstereceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda travmatik spinal kord hasarında bitkisel tedavinin medikal tedavileri destekleyici özelliği düşünüldüğünde antioksidatif antiinflamatuvar nöroprotektif etki ile iyileşmenin hızlanacağı kanaatindeyiz.

Cyclotrichium organifolium; geleneksel olarak grip, mide bulantısında ve kas iskelet sistemi rahatsızlıklarında tedavi amaçlı yaygın olarak kullanılmaktadır. *Cyclotrichium organifolium*' un uçucu yağının ve çeşitli ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin yüksek olduğu serbest oksijen radikalleri nedeniyle oluşan hücresel hasarı inhibe ettiği belirlenmiştir (5).

Ayrıca antioksidan savunmasında, besin metabolizmasında ve hücresel olayların düzenlenmesinde önemli rol oynar. Yapılan çalışmalar da hem hazırlanan ekstrelerin hem de bu ekstrelerden elde edilen bileşiklerin çok yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir (6, 7).

Thymbra spicata L. var. *spicata* Lamiaceae familyasına aittir. Lamiaceae türleri antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antifungal ve antiviral özelliklere sahiptir (8). *Thymbra spicata* L. var. *spicata* Türkiye'de geniş bir dağılıma sahip olup, yerel olarak zahter veya kara kekik olarak da bilinmektedir. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yaygın olarak bulunan zahter, kuru veya taze yaprak formunda lezzet ve aroma için kullanılır. Tıbbi olarak astım, kolik, bronşit, öksürük ve romatizma için bitki çaylarında veya halk tıbbında antiseptik ajan olarakta kullanımı yaygındır (9). *Thymbra spicata* türleri güçlü antifungal, antibakteriyel ve antioksidan etkiye sahiptir(10, 11). Carvakrol ve thymol gibi çok güçlü bileşenler içermektedir. Yapılan çalışmalarda bu bileşenlerinin güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri olduğu belirlenmiştir (12, 13). Çalışacağımız türler ile ilgili literatüre baktığımızda hem *Thymbra spicata* L .var *spicata* (zahter) hem de *Cyclotrichium Origanifolium*'un (dağ nanesi)'nin yüksek bir biyolojik potansiyele sahip olduğu görülmektedir. (14- 17).

Farklı amaçlarla yaygın olarak kullanılan *Thymbra spicata* L. var. *spicata* (zahter) ve *Cyclotrichium origanifolium*'un (dağ nanesi) antioksidan ve antiinflamatuvar antibakteriyel nöroprotektif aktivitelerinin yüksek olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (18- 20). Fakat literatürde spinal kord yaralanması üzerinde etki mekanizmalarını gösteren çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmayla omurilik yaralanması sonrası gelişen doku hasarında zahter ve dağ nanesinin biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal değişiklikler üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Omurilik Travmasının Tarihçesi

Omurilik travması yüzyıllardır bilinen, farklı klinik özellikler gösteren ciddi nörolojik hasar ve çoklu organ fonksiyon bozukluklarının eşlik ettiği karmaşık ve yıkıcı bir durumdur. Günümüzde hala ciddi bir morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir. Omurilik hasarı ve buna bağlı hastalıkların tanı ve tedavisi ile ilgili çalışmalar antik döneme kadar uzanmaktadır (21)

Tıp tarihinde omurilik hasarı ile ilgili ilk yazılı kayıt milattan önce 17. yüzyılda mısırlı doktor İmhotep tarafından yazıldığı düşünülen Edwin Smith cerrahi papirüsü adıyla bilinen belgedir. Bu papirüs de sözü edilen ilk cerrah olan İmhotep, omurga ile ilgili 48 kemik ile ilgili lezyonu anlatarak, ligaman hasarını, vertebral subluksasyon ve dislokasyonu tanımlamıştır. Omurilikte Üst ve alt bölge yaralanmalarına bağlı olarak kuadripleji ve parapleji gelişebileceğini belirtmiştir. Mısırlı hekimlerin farklı olguları değerlendirdikleri bu belgede omurilik yaralanmaları üçe ayrılarak sınıflandırılmıştır (22, 23).

Söz konusu belgede değerlendirilen olgulara göre hastalar “tedavi edilebilecek olgular” “tedavi edilmeye çaba gösterilmesi gerekenler” “umutsuz olgular” olarak sınıflandırılmıştır (24). Edwin Smith papirüsünde spinal hasar ile ilgili bu bilgiler yaklaşık 4500 yıl önce yazılmış olmasına rağmen geçerliliğini korumaktadır (25). Spinal travma ve omurilik yaralanması konusunda Hipokrat ve Galen dönemine kadar önemli bir gelişme kaydedilmemiştir (26). Hipokrat (MÖ: 460–370) omurganın segmentleri ve normal eğrilikleri, kanlanması, vertebra yapısı, tendonlar, vertebral kırık ve çıkıkları ile ortaya çıkan paraliziler arasındaki ilişkiye dikkat çekmiş, ancak medulla spinalis’ in fonksiyonu hakkında net bir fikir belirtmemiştir (26).

Hipokrat omurgayı redükte etmek amacıyla traksiyon cihazı tanımlamıştır. Galen (MS: 130–201) hayvanlar üzerinde yaptığı deneylerle değişik seviyelerde oluşan spinal kord yaralanmalarının olduğu segmentin altında duyu ve hareket kaybı olduğunu belirtmiştir (27). Ayrıca paralize adeleleri gözlemleyerek duysal kayıp alanını, lezyon bölgesini, yaralanma seviyesinin sinirsel innervasyonunun bozulduğuna dair fonksiyonel kusurları tanımlamıştır (21). Aegina’lı Paulus (MS:625–

690) traksiyon yapılarak omurilik hasarının önlenemeyeceğini belirtmiş ve ilk kez dekompresif cerrahi fikrini ortaya koymuştur. Omurga kırığı tedavisinde manuel ekstansiyonu önermiştir (28).

Fransız Ambroise Pare(1564–1598) demir korseyi ilk kez kullanarak omurgayı anterior ve posteriordan desteklemiştir. Omurga kırıklarında sinir köklerinin yaralanmasına sebep olan bütünlüğü bozulmuş kemik parçalarını cerrahi ile çıkarmıştır (29). Desault ve Chopart, 1796’da vertebral kırık olmasa bile omurilikte yaralanma olabileceğini, laminektomi yapıp lezyon bölgesinde oluşan kan ve skar dokusunun çıkarılmasını önermişlerdir (30).

Yıllar içerisinde omurilik yaralanmalarıyla ilgili belli bilimsel katkıların yanı sıra 19. Yüzyılda yapılan çalışmalar, omurilik yaralanmasının değişik yönleriyle ilgili bilgi birikiminin temelini oluşturmuştur. 1849’da Brown-Sequard kuşlarda yaptığı deneysel histolojik çalışmaları bildirmiş, omurilik yarı kesisiyle ilgili bilgiler vermiştir. 1894’te Myles travma sonrası yapılacak dekompresif laminektominin yararlarını tartışmıştır. Herbert Burrel, 1905 yılında spinal kord travmalarını sınıflandırmış, kapalı redüksiyonun başarısız olduğu durumlarda açık redüksiyonu önermiştir (31).

1911 yılında Allen köpeklerde laminektomi yapıldıktan sonra omurilik üzerine belli bir yükseklikten ağırlık düşürerek deneysel akut omurilik yaralanması modelini geliştirmiştir (32-34). Ağırlık düşürme modeli olarak tanımlanan bu modelde, dura mater üzerine dik açı ile belli bir yükseklikten belirli bir ağırlık düşürülerek travma oluşturulmuştur. Oluşturulan travmanın şiddeti, ağırlık ile yüksekliğin çarpımı (gr-cm) şeklinde ifade edilmiştir. Bu çalışma daha önce yapılmış olan deneysel çalışmalara belirli standartlar getirmekle birlikte sekonder hasar kavramının da öncülüğünü yapmıştır (35-37).

Allen’nin deneysel omurilik yaralanma modelinin dezavantajı, insanlarda sıklıkla anterior kord yaralanması oluşurken bu modelde posterior spinal kord hasarı oluşturulmaktadır. Buna karşın bu model, insandaki spinal kord yaralanmasının biyomekaniğini en iyi taklit eden modeldir (38, 39).

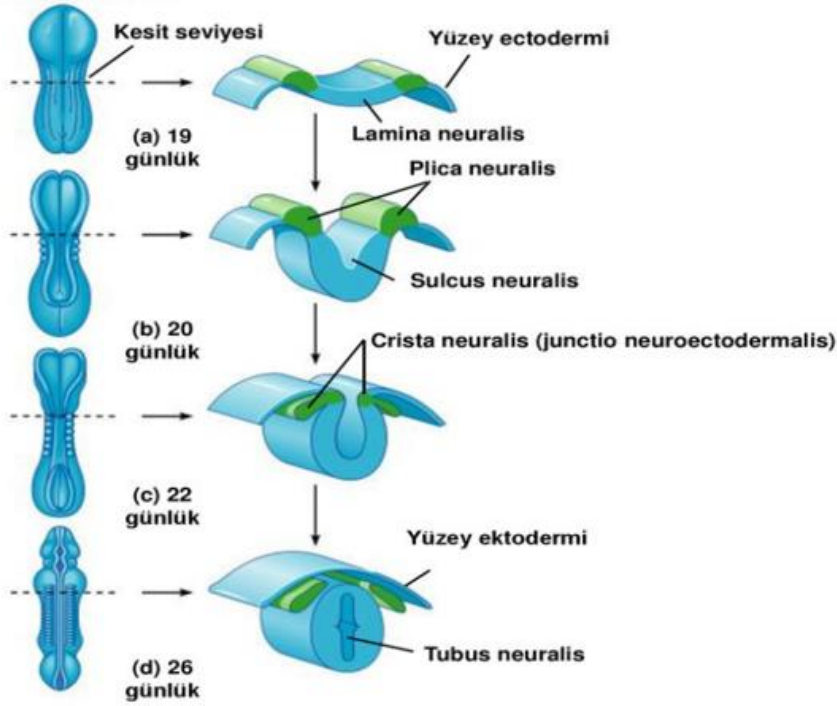
Tarlov, 1953’de epidural mesafede balon şişirerek omurilik yaralanması modelini oluşturdu. 1978 de Tator ve Rivlin tarafından omuriliğe anevrizma klipi yerleştirildi.

Klip kompresyon modeli olarak anılan bu yöntemle omuriliği komprese ederek klibin kapanma gücü ve süresi ile omurilik yaralanma şiddeti arasında ilişki olduğunu gösterdi. Bu yöntemle iskemi oluşturularak, omuriliğin tamamının travmaya maruz bırakılması insanlarda meydana gelen travma sonrası omurilik yaralanmasına benzer bir model oluşturulmuştur (21).

3.2. Spinal Kord ile İlgili Temel Bilgiler

3.2.1. Spinal Kord Embriyolojisi

Sinir sistemi tüm yapıları ile kökenini ektoderm ‘den alır. Embriyolojik hayatın üçüncü haftasında, embriyonun dorsal tarafında, chorda dorsalis’in (notokord) dorsal tarafındaki ektoderm kalınlaşarak nöral plağı oluşturur. Nöral plağın kenarlarının kalınlaşmasıyla crista neuralis oluşur. Crista neuralis ‘ler arasında uzunlamasına sulcus neuralis denilen bir oluk oluşur. Birkaç gün içinde sulcus neuralis ‘in iki kenarı servikal bölgeden başlayarak aşağı ve yukarı doğru kıvrılarak birbirine yaklaşır ve kaynaşarak tubulus neuralis’i oluştururlar. Tubulus neuralis’ten sinir sisteminin bölümleri gelişir. Tubulus neuralis’in ön dış bölümüne lamina basalis, arka dış bölümüne ise lamina alaris denilir. Bu sırada crista neuralis tubulus neuralis’in dorsolateraline geçerek kranial ve spinal sinirlerin ganglionlarını oluştururlar. Dördüncü haftada tubulus neuralis’in ön bölümüne pars cranialis, arka bölümüne ise pars spinalis denilir. Pars spinalis’ den spinal kord gelişir (Şekil 3.1) (40).



Şekil 3.1. Spinal kord embriyolojisi

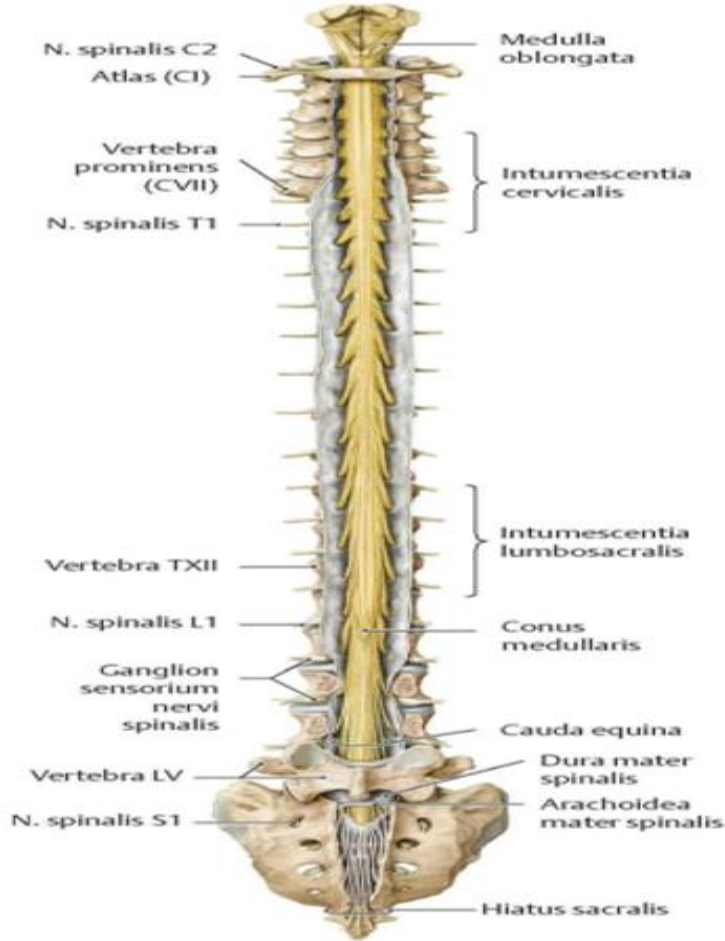
3.2.2. Spinal Kord Anatomisi

Spinal kord, canalis vertebralis içinde uzanan merkezi sinir sistemi bölümüdür. Yukarıda foramen magnum hizasından başlar koni şeklinde olan alt ucu ise L1-2 vertebra hizasında sonlanır.

Spinal kord'un boyu yaklaşık olarak 40-45 cm ve ağırlığı 30 gr kadardır. Canalis vertebralis'in yaklaşık % 2 'sini dolduran spinal kord merkezi sinir sisteminin % 2'si kadardır. Foramen magnum'un üst kenarı seviyesinden yukarıda encephalon'un medulla oblongata bölümü ile devam eder

Spinal kord, servikal ve lumbal bölgede olmak üzere iki yerde genişleme gösterir. Servikal bölgedeki genişlemeye intumescentia cervicalis denir. Buradan üst ekstremité ile ilgili olan Plexus brachialis'in oluşumuna katılan spinal sinirler çıkar. Spinal kord'un lumbal bölgedeki genişlemesine ise intumescentia lumbosacralis adı verilir. Buradan alt ekstremitenin innervasyonunu sağlayan Plexus lumbosacralis' in oluşumuna katılan spinal sinirler çıkar.

Spinal kord'un alt ucu incelerek conus medullaris adını alır. Conus medullaris'ten S4-5 coccygeal spinal sinirler ayrılır. Conus medullaris'in tepesinden aşağıya doğru uzanan ince pia mater uzantısına Fillum terminale adı verilir. Fillum terminale coccyx' e yapışarak sonlanır(Şekil 3. 2) .

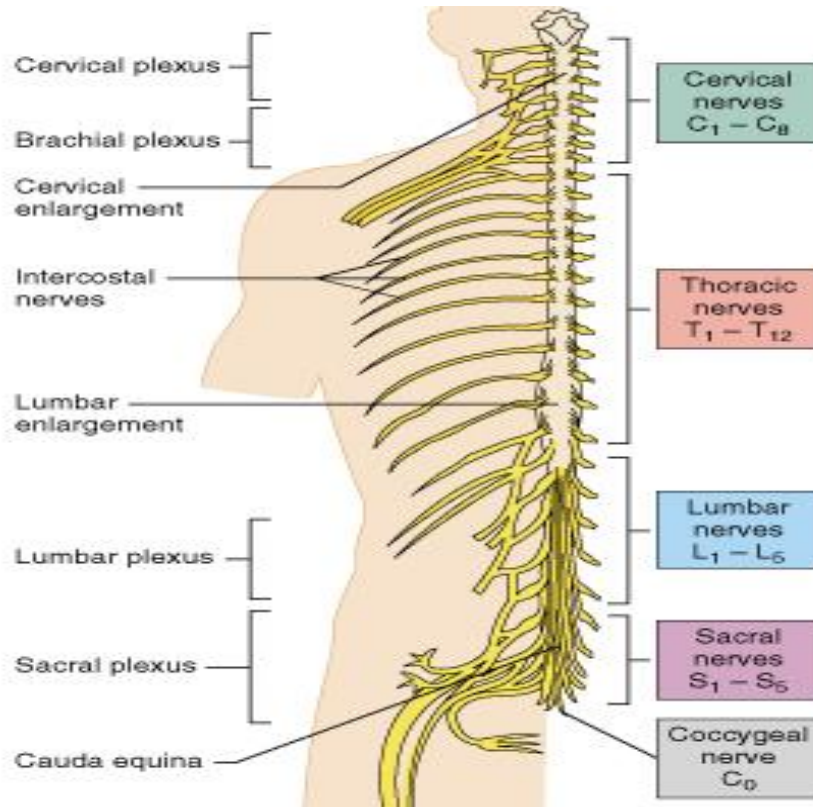


Şekil 3.2. Spinal kord anatomisi

Çevreden duyuları getirip sulcus posterolateralis 'ten spinal kord'a giren liflere radix posterior adı verilir. Sulcus anterolateralis'ten çıkarak spinal kord'u terk eden motor liflerin oluşturduğu yapıya radix anterior adı verilir. Spinal kord uzunluğu boyunca radix anterior (motor) ve radix posterior (duyusal) foramen intervertebrale'de birleşerek spinal siniri oluştururlar. Spinal kord uzunluğu boyunca 31 çift spinal sinir çıkar(Şekil 3. 3).

Spinal sinirin çıkış yerlerine göre;

- Cervical spinal sinirler: C1-8
- Thoracal spinal sinirler: T1-12
- Lumbal spinal sinirler: L1-5
- Sacral spinal sinirler: S1-5
- Coccygeal spinal sinirler: C1

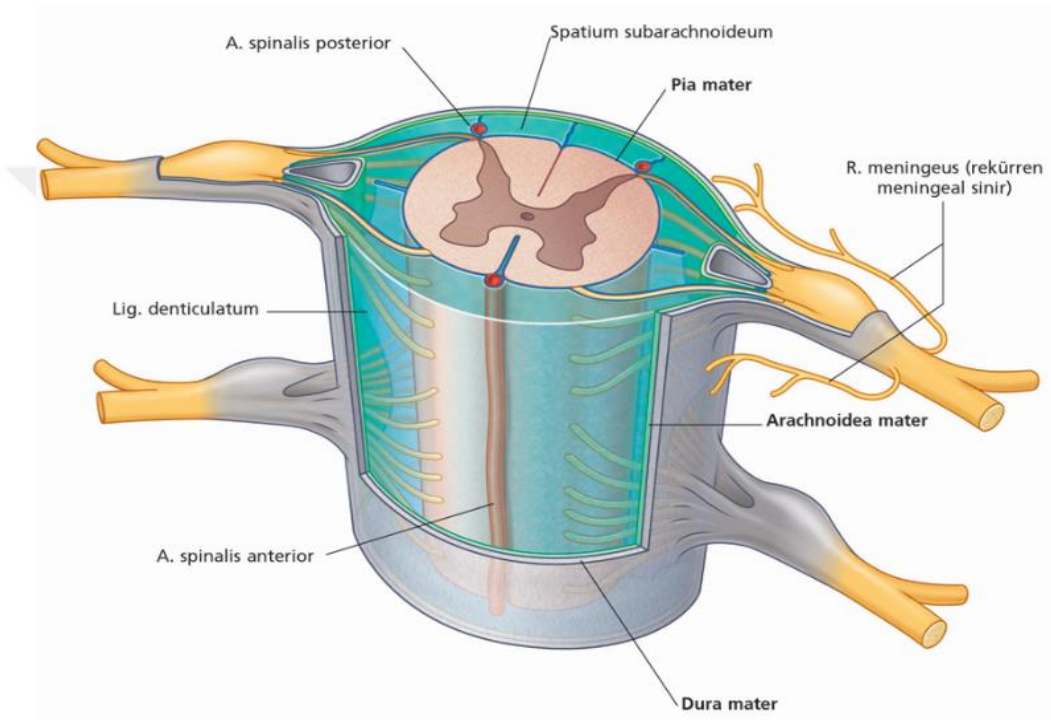


Şekil 3.3. Spinal sinirler

Spinal kord canalis vertebralis içinde dıştan içe doğru; dura mater, arachnoidea mater ve pia mater olmak üzere üç zar ile örtülüdür.

spinal kordu çevreleyen fibröz yapıda sağlam bir zar olan dura mater, foramen magnum'dan başlar aşağıda ikinci sakral vertebra seviyesinde filum terminalede sonlanır. Arachnoidea mater, spinal kord etrafındaki dura mater'in iç yüzünde bulunan ince ve geçirgen olmayan bir zardır. S2 vertebra seviyesinde sonlanır. Pia mater, dışta epi pia ve içte pia intima olmak üzere iki tabakadan oluşur. Spinal sinir kökleri

arasında yoğunlaşarak ligamentum denticulatum'u oluşturur. Lig. denticulatum spinal kord'un her iki yanında, spinal sinirin radix anterior ve posterior'u arasında uzanarak arachnoidea mater ile birlikte dura mater'in iç yüzüne tutunur ve omuriliğin dural kılıfın ortasında asılı kalmasını sağlar(Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Spinal kord zarları

Spinal kord yapı ve fonksiyon bakımından iki farklı bölümden oluşmuştur. Transvers kesitlerde; içte substantia grisea (gri madde), dışta substansia alba (beyaz madde) bulunur. Substantia grisea' da nöron gövdeleri ve myelinsiz sinir lifleri bulunur. Substantia alba'da ise myelinli sinir lifleri bulunur.

Substantia grisea 'nın arkaya doğru uzanan çıkıntılarına cornu posterior, öne doğru uzananlara cornu anterior denilmektedir. Spinal kord'un ön ve arka boynuzu arasında T1- L2 segmentleri arasında görülen çıkıntıya cornu laterale denilmektedir. Cornu anterior' larda motor nöronlar, cornu posterior' da duyu nöronları ve cornu

lateralis’lerde otonom nöronlar yoğun olarak bulunur. Spinal kord boyunca cornuların üst üste gelmesi ile gri madde sütunları oluşur. Bu sütunlara columna adı verilir. Cornu anterior, columna anterior; cornu posterior, columna posterior, cornu laterale ise columna laterale adını alır. Substantia grisea’nın ortasında, içinde beyin omurilik sıvısı (BOS) bulunan canalis centralis yer almaktadır (Şekil 3. 5) (41).

Canalis centralis ‘in ön tarafında kalan commissura grisea bölümüne commissura grisea anterior; arkada kalan bölümüne ise commissura grisea posterior adı verilir. Bu bölümler, sağ ve sol yarımları birleştiren liflerin geçiş yerlerini oluştururlar. Canalis centralis, yukarıda dördüncü ventrikül ile devam ederken aşağıda filum terminale içinde sonlanır. Burada kanalın genişleyen son kısmı ventriculus terminalis adını alır.

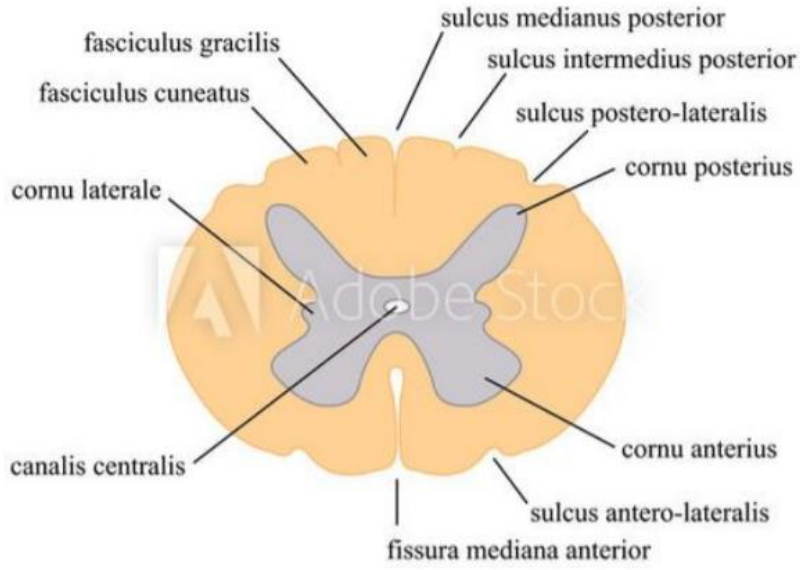
Substantia alba, genel olarak myelinli sinir lifleri, nöroglia hücreleri ve kan damarlarından oluşur. Büyük kısmını myelinli liflerin oluşturmasından dolayı beyaz görünür. Uzunlamasına seyreden liflerin çoğu commissura alba anterior’ da orta hattı geçerek karşı taraftan gelen liflerdir. Fonksiyonu, orjini ve gittikleri yer aynı olan liflerin demetler şeklinde oluşturdukları yapıya tractus denir.

Substantia alba; funiculus anterior, funiculus posterior ve funiculus lateralis olmak üzere üç gruba ayrılır.

Spinal kord’a gelen ve aynı cins duyuları taşıyan veya aynı yere giden lifler biraraya gelerek tractus’ları veya fasciculus ‘ları oluşturur. Bu liflerin bir kısmı spinal kord’ da sonlanırken, bir kısmı da yukarı çıkıp beynin çeşitli bölümlerinde sonlanır. Çevreden reseptörler aracılığı ile alınan duyular, spinal kord içerisinde afferent (çıkan) yolları oluşturur. Afferent yollar, genel

olarak ganglion spinale’de bulunan nöronların merkezi uzantıları veya gri madde laminalarında bulunan II. Nöronların uzantıları tarafından oluşturulur.

İnen(efferent) yollar genel olarak cerebrum cerebellum beyin sapı gibi supraspinal seviyelerdeki nöronların spinal seviyelere inen aksonları tarafından oluşturulur. Her iki yol da substantia alba içinde seyreder.



Şekil 3.5. Spinal kordun transvers kesiti

3.2.3. Spinal Kordun Vasküler Yapısı

Spinal kord temelde arteria vertebralis'in dallarından ve segmental damarlardan çıkan çok sayıda radiküler arter ile beslenir. A.vertebralis bir a.spinalis anterior ve iki a.spinalis posterior şeklinde dallarına ayrılır. A. Spinalis anterior; funiculus anterior, funiculus lateralis, cornu anterior ve substanti grisea'nın central parçasını besler. Çift dal olan a. Spinalis posterior; cornu posterior ve funiculus posterior'u besler. Segmental gelen radicular arterler ile vertebral arterin dalları arasında anastomaz bulunur. Spinal kord'a sol taraftan giren a. radicularis anterior magna (Adamkiewicz arteri) alt thoracal ve üst lumbal bölgeleri besler. T4 ile T5 seviyesindeki radiküler arterlerden beslenen orta thoracal bölgenin beslenmesi daha az olduğundan vasküler hasara daha açıktır (42).

Spinal kord'un venleri, arterlerin beslediği alanları drene ederler ve arterlerle aynı adları taşırlar. Radiküler venler, intervertebral venöz pleksuslara, intervertebral venler external vertebral venöz pleksuslara drene olur.

3.3. Omurilik Yaralanmalarının Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2013 yılındaki verilerine göre dünya genelinde her yıl 250.000-500.000 kişide omurilik yaralanması meydana gelmektedir. Etiyolojik olarak, omurilik yaralanması olan vakaların % 90' ından fazlası travmatiktir ve çoğunlukla trafik kazaları, spor yaralanmaları, evde düşmeler şiddet olaylarından kaynaklanır (43). Erkeklerde kadınların iki katı oranında görülür. Erkeklerde en çok genç ve orta yaş grubunda görülürken, kadınlarda ergenlik döneminde (15-19 yaş) ve yetmiş yaşları itibariyle daha sık görülmektedir. Yetişkinlerde, çocuklara göre daha fazla görülmektedir (43). Omurilik yaralanması olan 60 yaş ve daha büyük bireylerde; genç hastalara göre önemli ölçüde daha kötü sonuçlar görülürken, yaralanmaları genellikle düşme ve yaşa bağlı kemiksel değişikliklerden kaynaklanır (44).

Spinal kord yaralanması'nın klinik sonuçları, lezyonun ciddiyetine ve konumuna bağlıdır ve yaralanma seviyesinin altında kısmi veya tam duyuşsal ve /veya motor fonksiyon kaybını içerir. Thoracal seviye ve aşağısındaki lezyonlar paraplejiye neden olabilirken, servikal seviyedeki lezyonlar quadriplejiye yol açar (45). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre servikal seviyede görülme oranı (% 50) iken, bu bölgede en çok C5 seviyesinde görülmektedir. Thoracal bölgede yaralanmanın görülme oranı (% 35) iken lumbal bölge yaralanma oranı (% 11)'dir. Avustralya'da 1955 ile 2006 yılları arasında Spinal kord yaralanması geçiren hastaların klinik sonuçlarına ilişkin raporlar, tetrapleji olan hastalar için hayatta kalma oranlarının % 91,2 ve parapleji olan hastalar için % 95,9 olduğunu belirlemişlerdir. Tetrapleji ve parapleji hastaların 40 yıllık sağkalım oranı ise sırasıyla % 47 ve % 62 olarak belirlenmiştir (46).

Türkiye de ülke çapında, Spinal kord yaralanması üzerine epidemiyolojik olarak yapılmış kapsamlı araştırmalar bulunmadığı için Spinal kord yaralanması epidemiyolojisi ile ilgili mevcut veriler birkaç bölgesel çalışma ile sınırlıdır (47, 48). Ülkemizde, Karacan ve ark. larının 2000 yılında yayınlamış oldukları çalışmada; omurilik yaralanmasının, erkeklerde kadınlara göre daha fazla görüldüğü erkek/ kadın oranı 2.5/1 olarak tespit edilmiştir. En yaygın görülen yaş grubunun 20-29 yaşları arasında olduğunu ve bunu 30-39 yaş gruplarının takip ettiğini belirlemişlerdir. En yaygın yaralanma nedeni motorlu taşıt kazaları (% 48,8), yüksekten düşme (% 36,5), kesici delici alet yaralanması (%3.3), ateşli silah ile yaralanma (%1.9) şeklinde

görülmektedir. Yaralanma seviyesine göre hastaların (% 67.8) paraplejik iken (% 32.18) tetraplejiktir. Paraplejiklerde yaralanma en çok T12 (% 17.7) seviyesinde görülürken tetraplejiklerde yaralanma C5 (% 57.4) seviyesinde görülmektedir (49).

3.4. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi

Yıllardır bilimsel araştırmaların önemli konularından olan omurilik hasarı yıkıcı bir durum olmakla birlikte kesin bir tedavi yönteminin olamamasıyla da ciddi bir sorun olmaya devam etmektedir. Omurilikte oluşan hasarın fizyopatolojik gelişim süreçlerini bilmek yeni ve etkili tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak sağlar. Yapılan deneysel çalışmalar aniden gelişen omurilik yaralanmasının patofizyolojisinin karmaşık olduğunu, birincil yaralanma ve ikincil yaralanma olarak iki aşamaya ayrıldığını ortaya koymuştur (50, 51)). Birincil yaralanma aniden gelişen mekanik etkiyle ortaya çıkarken, ikincil yaralanma birincil yaralanmayı takiben ortaya çıkan bir dizi hücrel moleküler ve biyokimyasal değişiklikler sonucu ortaya çıkar (52, 53).

3.4.1. Birincil Yaralanma

Birincil yaralanma genellikle ani travmatik bir etkiyle omurgada kırılan veya yerinden çıkan vertebraların veya disk materyallerinin omurilik dokusunda nöral aksonal ve vasküler yapılara zarar vermesiyle ortaya çıkar (3, 54, 55). Omurilikte birincil hasara neden olan yırtılma veya kesilme gibi yaralanmalar, patlama, kırık, dislokasyon, ateşli silah yaralanması sonucunda olmaktadır. Mekanik darbenin yarattığı ezilme ve basınç omurilik için gerekli olan kan dolaşımının azalmasına neden olur. Beklenmedik ani nedenlere bağlı geliştiği için engellenemez ve şiddeti değiştirilemez (2). Birincil yaralanmaya tıbben müdahale edebilme imkanı yoktur.

3.4.2. İkincil Yaralanma

ikincil yaralanma, birincil yaralanmayı takiben dakikalar içinde başlar, haftalar veya aylar boyunca lezyon bölgesini çevreleyen omurilik dokusunda ilerleyici hasara neden olarak devam eder (3). Spinal kord yaralanmasından sonra, lezyon bölgesinde kanama, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekrozlu kavite oluşumu ve bir dizi patolojik değişiklikler oluşur. Bu değişikliklerin etkisiyle serbest oksijen radikallerinin

artması, eksitotoksisite, oksidatif hasar, iskemi, hücre içi Ca artışı, lipid peroksidasyon ve inflamasyon ikincil yaralanmanın patolojik sürecine katılır (56,57).

Biyokimyasal olarak; glutamata bağlı eksitotoksisite, endojen opioidler serbest radikal üretimi, serbes yağ asitlerinden özellikle araşidonik asit salınımı, nörotransmitter birikimi, noradrenalin ve dopamin gibi katekolaminler, eikosanoid üretimi, prostoglandinler ve sitokinler ortaya çıkmaktadır.

Yaralanma sonrasında nöronal hasara sebep olan ikincil yaralanma patolojilerinin tam olarak anlaşılması etkili ve gelişmiş tedavi şekillerinin oluşturulmasında temel rol oynar (58). İkincil yaralanma kavramı ilk olarak 1911'de Allen tarafından ortaya konuldu (59). Allen köpekler üzerinde yaptığı deneysel çalışmada, travma sonrası hematomiyelinin çıkarılmasının nörolojik durumu iyileştirdiğini hemorajik lezyonun omurilikte daha fazla hasara neden olduğunu ve nekrotik dokuda bazı biyokimyasal faktörlerin varlığını tespit etmiştir (38). İkincil yaralanma geçici olarak akut, subakut ve kronik fazlara ayrılır. Akut faz, omurilik yaralanmasından hemen sonra başlar ve nörojenik şok, vasküler endotel hasar, iyonik dengesizlik, serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyon, inflamasyon, ödem ve nekrotik hücre ölümünü içerir (60,-61).

Akut fazın etkisiyle yaralanma ilerledikçe Apoptoz, aksonal demiyelinizasyonunu Wallerian dejenerasyonu, yara çevresindeki matriksin yeniden şekillenmesi ve etrafındaki glial skarın oluşumunu içeren yaralanmanın subakut fazı başlar. yaralanmanın kronik fazında kistik boşluk, progresif aksonal rejenerasyon ve glial skarın olgunlaşması meydana gelir (62, 63). Spinal kord yaralanmasına bağlı ikincil hasarın önlenmesi için; serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyon, oksidatif stres, kalsiyum sodyum potasyum iyon kanalları, nörotrofik faktörler, inflamasyon endojen opioid reseptörleri, apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmalarının iyi anlaşılması gerekir. Burada Spinal kord yaralanmasında ikincil yaralanmanın akut temel bileşenlerinin patofizyolojisini gözden geçireceğiz.

Tablo 1. Omurilik yaralanmasında ikincil yaralanma mekanizmaları

Vasküler Değişiklikler	Mekanik etkiye bağlı Kapiller ve venüllerde hasar Dolaşımda ve omurilik kan akışında azalma Substantia griseada hemoraji Tromboz Vazospazm
Sistemik Değişiklikler	Kalp atım hızında artış (taşikardi) Kan basıncında artış, Hipotansiyon Bradikardi Periferik damar direncinde azalma Kardiyak debide azalma
İyonik Değişiklikler	Hücre içi kalsiyumda düzeyinde artış Hücre içi sodyum düzeyinde artış Hücre dışı potasyum düzeyinde artış
Biyokimyasal Değişiklikler	Glutamat artışı Eksitotoksitite Noradrenalin dopamin birikimi Serbest radikal oluşumu Araşidonik asit salınması Endojen opioidler sitokinler Prostaglandinler Lipid peroksidasyonu
İnflamasyon	Lökosit artışı Makrofajlar Aksonal hasarlanma Serbest radikal üretimi Miyelin artıklarının salınımı Sitokinlerin salınması Glial hücre aktivasyonu Oligodendrositlerde sitotoksik etkiler Wallerian dejenerasyon
Ödem	Hücre içi sodyum düzeyinin artması
Enerji Metabolizması	İskemi ATP üretiminde azalma

3.4.2.1. Vasküler değişiklikler

Spinal kord yaralanmalarında patolojik belirtiler, hasarlanmayı meydana getiren etkinin şiddetine, süresine ve yaralanmadan sonra geçen süreye bağlı olarak farklılık gösterir. Her ne kadar yaralanmalar değişiklik gösterebilir ilk patoloji vasküler kaynaklıdır (64, 65). Travmanın şiddetine bağlı olarak vasküler yapılarda hasar, kapiller ve venüllerde mekanik bozulma, özellikle gri cevherde görülen hemoraji yanında tromboz veya vazospazma bağlı mikrodolaşımda kayıp gözlenmektedir. Artan serbest oksijen radikallerinin endotel hasarına neden olmasından kaynaklı kan-omurilik bariyeri bozulur. Savunması bozulan yaralanma bölgesine zararlı maddeler

birikerek doku hasarını artırır (66, 67). Akut omurilik yaralanması mikrosirkülasyon ve perfüzyonun bozulmasına bağlı olarak sistemik vasküler değişikliklere ve endotel hasarına neden olur. Bu değişikliklerin ilerleyici karakteri omurilik iskemisini travmadan sonra gittikçe arttırır kan akımında %50 azalma olur. Bu düşme gri cevherde daha fazla olur. Beyaz cevherde hipoperfüzyona neden olur, vasküler otheregölasyon bozulur, doku oksijenasyonu azalır hemorajik bölgeler ve çevresinde iskemi görülür ve omurilikte metabolik artıklar birikir.

Bu patolojik durumları oluşturan esas mekanizmalar bozulmuş spinal kord perfüzyonu ve hücresel düzeyde enerji yetersizliğidir (68). Spinal kord hasarının kanlanmada önemli derecede azalmaya neden olduğu ve travmadan hemen sonra iskeminin başladığı bilinmektedir (69). Sistemik hemodinamik değişiklikler omurilikteki kan akışını etkiler, otheregölasyonu bozar. Spinal yaralanmanın oluşturduğu iskemi sistemik hipotansiyon ve hipoksiye neden olur (70). İskemi, dokulara glikoz ve oksijenin yetersiz taşınmasıyla ATP depolarında azalma ile enerji eksikliğine neden olur.

3.4.2.2. Spinal Şok

Spinal şok sırasında görülen patolojik durumların omurilik dokusunda hasar görmüş hücrelerdeki potasyumun ekstraselüler alanda birikerek aksonal iletimin azalması sonucu olduğu düşünülmektedir. Potasyum seviyesi hem intraselüler hemde ekstraselüler alanda normal düzeylere yaklaştıkça spinal şok hafifler (71). Spinal şok esnasında sistemik olarak kalp hızında kısa süren artış daha sonra uzun süre görülen bradikardi, kan basıncında başlangıçta kısa süreli hipertansiyon daha sonra uzun süreli hipotansiyon görülür. Omurilik yaralanmasının seviye ve şiddetine göre sempatik innervasyonun azalması, periferik damar direncinin ve kalp debisindeki düşüş hipotansiyon ve bradikardi gelişmesine neden olur (34).

Spinal şok nedeniyle vasküler regölasyonun bozulması perfüzyon basıncının düşmesine bağlı olarak dokulara yeterli oksijen ulaşması engellenir.

3.4.2.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikaller, elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen, atom ya da moleküllerdir. Yaşadığımız ortamda dışarıdan gelen çeşitli fiziksel etkenler ve

kimyasal olaylar nedeniyle sürekli bir radikal yapımı vardır. Hücresel boyuttada önemli miktar ve çeşitlilikte radikaller üretilir.

Serbest radikaller organizmada normal hücresel işleyiş sırasında oluşabildiği gibi, dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Serbest radikaller genellikle iç ve dış faktörlerin birlikte etkili olması sonucu oluşurlar (72). Serbest radikaller travmatik ve iskemik spinal kord yaralanmalarında önemli role sahiptir. Spinal kord yaralanmasından sonra günlerce hücre ölümleri devam eder (73). İskemi ve hipoksi sonrasında hücrelerdeki yetersiz elektron transferi sonucu süperoksit radikalleri oluşur. Fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller antioksidan mekanizmalar ile inaktif hale getirilerek doku hasarının oluşmasını engellerler.

Omurilik hasarı sonrası antioksidan mekanizmalar hızla azalır. Oluşan serbest radikaller proteinler, lipidler ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek sıklıkla lipid peroksitler oluştururlar ve bunun sonucunda daha fazla serbest radikal ortaya çıkar. Serbest oksijen radikallerinin artması ilerleyici doku hasarına neden olur (74, 75).

Serbest oksijen radikalleri endotel hasarına yol açarak kan omurilik bariyerinin bozulmasında da rol alırlar (76). Serbest radikaller lipid peroksidasyonuna ve bunun sonucunda hücre membranlarının çözülmesine yol açar (77). Sonuç olarak membran fonksiyonu bozulur. Membran bozulması ile daha sertleşir ve akışkanlığı azalır, membrandaki iyon pompaları değişir. Sonuçta membrana bağlı enzimleri inaktive eder, membran bütünlüğünün tamamen kaybolmasına yol açar (74).

Spinal kord travması sonrası ortaya çıkan lipid peroksidasyonu nöronal hasara neden olan önemli mekanizmalardan biridir. Lipid peroksidasyonun önlenmesi hem hücresel moleküler düzeyde hemde nörolojik iyileşme için gereklidir. Malondialdehit (MDA) serbest oksijen radikallerinin membran lipidlerini parçalamasıyla ortaya çıkar, bu nedenle MDA ölçümü lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir.

3.4.2.4. İnflamasyon ve Oksidatif Stres

İnflamasyon doku hasarına karşı gelişen genel bir savunma ve onarma mekanizmasıdır. Spinal kord yaralanmasını takiben inflamatuvar yanıtta yer alan birçok hücre tipi vardır. Bunlar nötrofiller, mikroglia ve astrositler gibi hücresel unsurlardır (78, 79). Yaralanmadan sonra periferdeki lökositlerin hasar bölgesine hızlı bir akışı

olur. Erken fazda nötrofiller baskındır. Daha sonra makrofajlar kanamalı ve nekrotik dokuların ortadan kaldırılması sürecine katılırlar. İnflamasyon omurilik yaralanmasının ilk 24 saatinde başlar ve bir hafta devam eder. Wallerian dejenerasyonu ve skar dokusu oluşumu ile karakterize bu olaylarda astrositler ve diğer glial hücrelerde etkilidir (80). İnflamasyon, ikincil yaralanma mekanizmalarının lokal ve sistemik sonuçlarının önemli bir bileşenidir.

Serbest radikallerin oluşum hızıyla doğru orantılı olarak inaktifleştirme mekanizması hızı dengede olursa doku ve hücreler zarar görmez. Fakat yeterli savunma desteği olmaz ve serbest radikallerin oluşum hızı çok artarsa organizma için zararlı sonuçlar doğurur. Bu sonuçların zararlı etkilerinin tümüne oksidatif stres denilmektedir. İnflamasyon ve oksidatif stres, spinal kord hasarına bağlı gelişen hücresel moleküler ve biyokimyasal patolojileri artıran temel unsurlardır (81, 82).

3.4.2.5. İyonik Değişiklikler

Omurilik yaralanmasına bağlı olarak hücre membranında hasar oluşmasından dolayı kalsiyum (Ca) iyon akışı zarın iki yüzeyi arasındaki voltaj farkını azaltır. Kalsiyumun hücre içine akışı gerçekleşir. İntraselüler kalsiyum artışı vasküler yapılarda kontraksiyona neden olarak vazospazm oluşturur. Ca gerek hücreyi etkileyerek gerekse dolaşımı yavaşlatıp enerji metabolizmasını etkileyerek hücresel hasara neden olmaktadır (83).

Hücre içi Ca artışı; apoptoz, nekroz, mitokondrial hasar, asidoz ve artmış serbest radikal üretimine neden olarak aksonal yaralanmaya yol açar. Periaksonal gliada voltaj bağımlı Ca kanalları boyunca Ca akışı posttravmatik aksonal dejenerasyonu hızlandırır. Oligodendrositlerde Ca kanallarının yoğun aktivasyonu bu hücrelere zarar verir. Bu kanalların aktivitesinin durdurulması oligodendrosit ve myelinlerini koruyabilir (84).

Normal şartlarda Ca iyonu akışı, mitokondrinin düzensizliğini uyararak serbest radikallerin oluşumunu düzenlemekte rol oynar. Yaralanmanın etkisiyle hücre membranını koruyan sodyum (Na), potasyum (K) ve ATP'ase dengesinin bozulması sonucu intraselüler Ca düzeyinde kontrolsüz artış olur. Hücresel boyutta mitokondrilerde oksidatif fosforilasyonunun azalıp durma noktasına gelmesine, ATP üretiminin azalmasına yol açar. Kalsiyumun düzeyinin intraselüler alanda artması

fosfolipazların aktivitesinin artmasına neden olur. Bunun yanında lezyon bölgesinde travmanın etkisiyle artan nötrofillerde fosfolipaz salgılanır. Artan Fosfolipaz aktivasyonu sonucu membran fosfolipidlerinden araşidonik asid salınır. Araşidonik asitin aktivasyonu sonucu iskemi gelişir. İskeminin etkisiyle serbest oksijen radikallerin oluşmasına ve lipid peroksidasyonu ile hasarın artmasına neden olur. Serbest radikaller hücre membranındaki yağ asitlerinin zincir şeklinde tekrarlanan reaksiyonlarla oksidasyonuna yol açarak daha çok serbest radikal oluşmasına neden olurlar (85).

Sodyuma bağlı hücre hasarı Na^+/K^+ ATPase enzim aktivitesinin bozulması sonucu hücre içine giren sodyum düzeyinin su ve klor iyonu ile birlikte artmasına ve potasyumunda hücre dışına çıkmasına yol açar. Akut ödem gelişmesinin zeminini hazırlayan bu süreç ilerledikçe kalsiyumun hücre içine girmesine ve hücre içi Ca artışına neden olur. Spinal kord hasarı sonucu Na iyon akışının bozulması substantia albanın aksonal ve glial yapıların hasarına yol açar.

3.4.2.6. Nekroz ve Apoptoz

Yaşlanmaya ve hasara bağlı hücre ölümü farklı şekillerde gerçekleşir. Hücreler fizyolojik, programlanmış hücre ölümü olan apoptoz ve patolojik hücre ölümü nekroz gibi çeşitli hücre ölüm tipleriyle yok olmaktadır (86). Apoptozda hücre membranı sağlamken organeller ile birlikte hücre büzüşüp küçülür. Programlı bir şekilde hücreler tek tek veya birkaçı birarada ölürken ATP gereklidir. İnflamasyon görülmeden makrofajlar tarafından fagositozla temizlenirler (87, 88).

Spinal kord hasarında meydana gelen hücre ölümünün bir kısmında apoptoz etkilidir. Akut deneysel omurilik yaralanmasını takiben nöronal hücre ölümünün mekanizması apoptoz olarak bilinir. Hem birincil hem de ikincil yaralanma kaskadları sonucunda hem nöronal hem de destekleyen dokularda hücre ölümü gerçekleşir. Hücre ölümü morfolojik olarak nekroz ve apoptoz olmak üzere farklı iki yolla meydana gelir. Nekrotik hücre ölümü; meydana gelebilecek ezici hücre hasardan sonra hücrelerin gerçek mekanik bozulmasını takiben ikincil yaralanma kaskadı sırasında meydana gelir.

Travmatik omurilik yaralanması sırasında meydana gelen nekrotik hücre ölümünün sonucu olarak nöronal doku hasarı oluşur. Nekrotik hücre ölümü hücre kontrol

olmadan pasif olarak gerçekleşir. Buna karşılık, apoptotik hücre ölümü uyarılabilir hücreler tarafından belirli bir uyarana karşı fizyolojik veya programlanmış aktif hücre ölümü olarak görülür (89-91).

Akut omurilik yaralanmasını takiben oluşan apoptotik hücre ölümü bloke edilerek veya sınırlandırarak nöronal hücrelerin hayatta kalabileceği çeşitli dokularda gösterilmiştir (92,93). Nekrotik hücre ölümünde hücre membranı bütünlüğü kaybolur. Hücre şişer ve iyon dengesi bozulur, ATP gerekmez (94). Hücreler gruplar halinde ölür. İskemi, hipoksi, oksidatif stres gibi patolojik etkiler sonucu gerçekleşir. Lizozomal enzimler ve hücre içinin salınımı ile inflamasyona neden olur.

Lezyon bölgesinde travmanın etkisiyle hasar gören hücrelerin harabiyetini ve nekrotik olarak ölümünü engelleme olanağı yoktur. Ancak yaralanma bölgesinden uzaktaki nöronlarda ve oligodendrositlerde ikincil hasarın etkisiyle apoptoz meydana geldiği gözlemlenmiştir. Apoptozda hücrenin kendisini planlı bir şekilde parçalaması için enzimleri aktive edip yok etmesi önemlidir. Omurilik yaralanmasından sonra apoptotik hücre ölümünü engellemek için enzimlerin hedeflenmesi potansiyel bir terapötik uygulamadır (3). Günümüzde apoptotik mekanizmaya müdahale edebilecek araştırmalar devam etmektedir.

3.5. Antioksidan Tedavi

Omurilik yaralanması meydana geldiğinde, ilk dakikalar ve saatler içinde çok sayıda reaktif oksijen ve azot türleri etkinleşir. Merkezi sinir sisteminde çeşitli patolojilerin gelişiminde ve ilerlemesinde serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonu mekanizmalarının önemli bir etkisi vardır. Spinal kord yaralanmasında moleküler ve hücresel yapılar mikro ortamın oksidatif durumuna bağlı olarak sağ kalım, hücre infiltrasyonu, yerleşik apoptozis ve inflamatuvar yanıt oluşturarak düzenleyici rejeneratif yanıt başlatabilir veya yaygın doku hasarı ve nöronal fonksiyon kaybına yol açabilir. Spinal kord yaralanmasında ilaç tedavilerinin ana hedefleri olan nöroproteksiyon ve nörorejenerasyon için antioksidan tedaviler ilk sırada yer alır.

rejenerasyonu olumlu yönde uyarabilecek hücresel yolları ve nöral büyüme faktörlerini belirlemek için de araştırmalar yapılmaktadır. Yeni antioksidan ajanlar geleneksel farmakolojik tedavilere göre doğru bir şekilde modüle edildiğinde,

fonksiyonların geri kazanılmasında moleküler düzeydeki etkileri ile gelişme vaat eden mekanizmaları ortaya çıkarmaktadır. Omurilik yaralanmasında maksimum kurtarma için erken terapötik müdahale çok önemlidir.

Serbest oksijen radikalleri ilerleyici doku hasarına neden olmaktadır (75). Hızla artan serbest radikal oluşumunun önlenmesi hem hücrelerin hemde dokuların işlevselliği açısından hayati önem taşır. Hücrelerin aktiviteleri sonucu devamlı olarak oksijen toksik metabolitler oluşur. Antioksidan mekanizmalar Serbest radikallerin oluşumunu engeller (95). Dolayısıyla serbest radikallerin oluşturduğu hücrel ve moleküler yaralanmayı azaltır, oksidanların toksik ürünlere dönüşmesini engellerler (34).

Hücrelerde doğal olarak bulunan antioksidan bileşikler yaralanma sonucu gelişen nöropatolojik etkileri kontrol etmesine rağmen omurilik yaralanması gibi patolojik durumlarda aşırı serbest radikal üretimi antioksidan kapasiteyi aşar.

Antioksidan savunma sistemi, serbest oksijen radikallerin ve oksidanların zararlı etkilerini en aza indirip yok ederek hücreleri korur. Antioksidan yanıt beklenen düzeyde alınamadığında oksidatif strese neden olur ve hücrel hasar oluşur (96). Oksidan ve antioksidan kapasitenin ölçümü de oluşan hasar veya hasara cevabın bir göstergesidir (97).

Yoğun serbest radikallerin oluşumunu engellemek hücre canlılığını korumak ve devam ettirmek için önemlidir (98). Omurilik yaralanmasının patofizyolojisi üzerinde önemli bir etki gösteren antioksidatif savunma mekanizmalarının etkinliği yaşlanma ile birlikte azalır. Spinal kord yaralanması tedavisi için yeni farmakolojik ajan bulma araştırmaları ikincil yaralanma sürecinde antioksidan tedavinin önemine odaklanmışlardır (99).

3.5.1. *Thymbra spicata* L. var. *Spicata* (Zahter)

Aromatik bitkiler uzun yıllardır yiyecek, içecek ve ilaç yapımında kullanılır. Lamiaceae ailesi tıbbi aromatikteki en büyük bitki gruplarından biridir. Lamiaceae familyasından bir tür olan *Thymbra spicata* L. var. *spicata* Türkiye'de geniş bir dağılıma sahip olup, yerel olarak zahter veya karabaş kekik olarak da bilinmektedir. Türkiye'de Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yaygın olarak bulunan Karabaş kekik,

kuru veya taze yaprak formunda lezzet ve aroma için kullanılır. Tıbbi olarak astım, kolik, bronşit, öksürük ve romatizma gibi rıhatsızlıkların tedavisinde kullanılmakla birlikte antiseptik ajan olarakta kullanımı yaygındır (9) .

Carvakrol ve thymol gibi çok güçlü bileşenler içeren *Thymbra spicata* L. var. *spicata*, gıda endüstrisinde lezzet aroma için kullanılmasının yanı sıra birçok hastalığın tedavisinde de kullanılmaktadır. Yapılan birtakım deneysel çalışmalarda antioksidan, antiinflamatuvar, antitümör, analjezik ve nöroprotektif etkisi gösterilmiştir (100).

Gedikoğlu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; *Thymbra spicata* L.var *spicata* türünün uçucu yağı hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilmiş ve biyolojik aktivitesi incelenmiştir. Bu çalışmada elde edilen uçucu yağın çok yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (16). *Thymbra spicata* önemli bir gıda ürünü olmasının yanında yapılan son çalışmalarla geleceğin ilacı olarak da önemli kılınmaktadır (101).

Thymbra'nın yapraklı kısmı gıdalara lezzet ve aroma vermesi için kullanılmasının yanı sıra çay olarak tüketilmektedir (102). *Thymbra spicata* türleri, belirgin antifungal, antibakteriyel ve antioksidan etkiye sahiptir (103, 104). Temeldeki baskın bileşen yağ Carvakroldür. Diğer ana bileşenler γ Terpinene, p-simen ve bu üçünün oranıdır. *T. spicata* L.'nin metanol ekstresinin fenolik ve flavonoid olduğu belirlenmiştir. *T. Spicata* bileşenleriyle güçlü antioksidan antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahiptir (105).

3.5.2. *Cyclotrichium organifolium* (Dağ nanesi)

Tıbbi ve aromatik bitkiler üzerine yapılan pek çok çalışma, bu bitkilerin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduklarını serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilerini ortadan kaldırabilecek doğal kaynak olarak kullanılabileceklerini göstermektedir. Bu özellikleri yapılarındaki vitamin, karotenoid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, lignan ve fenolik asit gibi çeşitli aktif fitokimyasallardan kaynaklanmaktadır.

Labiatae ailesine ait tıbbi aromatik bir bitki olan *Cyclotrichium organifolium* halk arasında dağ nanesi olarak bilinir. Türkiyede 5 türü bulunmaktadır. Bunlar *Cyclotrichium niveum*, *Cyclotrichium organifolium*, *Cyclotrichium leucotrichum*,

Cyclotrichium stamineum ve *Cyclotrichium glabrescens*'dir. *Cyclotrichium niveum* ve *Cyclotrichium organifolium* Türkiye'ye özgü endemik türlerdir (106). Dağ nanesi Türk yemeklerinde baharat olarak kullanılmasının yanı sıra çay olarakta tüketilmektedir. (107).

Güncel araştırmalar serbest radikalleri temizleyen ve organizmayı detoksifiye eden antioksidan maddeler ile kardiyovasküler hastalıklar ve kanserler Parkinson ve Alzheimer hastalıkları da dahil olmak üzere nörodejeneratif hastalıkların yanı sıra iltihaplanma ve hücrel kutanöz yaşlanmaya neden olan serbest radikallerin zararlı etkisini engelleyebileceğini göstermektedir (108- 111). Bu nedenle bitki kaynaklı antioksidanlar şimdi özel bir ilgi görmektedirler (112). Literatürde *Cyclotrichium organifolium* ana bileşenlerinin (menthone ve pulegone) antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri ile test edilen, pulegonca zengin *Mentha suaveolens* uçucu yağının tüm mikroorganizmaları etkili bir şekilde inhibe ettiği görülmüştür (113).

Antioksidanlar, hücre zarlarındaki lipid bileşenlerinin oksidasyonunu en aza indirir veya uçucu organik maddeleri inhibe eder. *C. organifolium* aktif bileşenlerini elde etmek için herhangi bir tip ekstraksiyon prosedürü ile lipid oksidasyonunu inhibe etmek mümkündür (114). İnsan hastalıklarını önleme gücüne sahip şifalı bitkiler büyük ilgi görmüştür (115, 116). Bitki fenolikleri çok işlevli antioksidanlar olarak kabul edilir. Kapsamlı biyolojik ve farmasötik özelliklere sahip flavonoidlerin, antiinflamatuvar, antibakteriyel, immün uyarıcı, antiviral, antioksidan ve antikanserojen özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (117). *C. organifolium* biyoaktif flavonoidlerinden oluşması nedeniyle, gıda endüstrisinde doğal antioksidan olarak kullanılabilmesinin yanı sıra ilaç keşif ve geliştirme sürecinde kullanılmaktadır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (DÜHADEK) tarafından 30/05/2019 tarih, 2019/08 protokol numarası ile onaylanmıştır. Dicle üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü(DÜBAP) tarafından maddi olarak desteklenmiştir. Çalışmadaki deney hayvanları Dicle üniversitesi deney hayvanları laboratuvarından temin edilmiştir.

Çalışmanın deneysel bölümü Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DÜSAM) laboratuvarında, histolojik ve immünokimyasal çalışmaları Dicle Üniversitesi Histoloji laboratuvarında, biyokimyasal çalışmalar Diyarbakır Gazi Yaşargil eğitim ve araştırma hastanesi biyokimya laboratuvarında yapılmıştır.

4.1. Deney Hayvanları

Ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 8-10 haftalık Wistar Albino erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar paslanmaz çelik kafeslerde 22 ± 2 °C de 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlıkta normal diyet ve musluk suyu ile herhangi bir kısıtlama yapılmaksızın beslenildi. Omurilik travması oluşturmak üzere cerrahi girişim yapılan sıçanlara ketamin ve Xylazin intraperitoneal olarak verildi. Sıçanlar mantar bloklar üzerinde prone pozisyonunda yerleştirildi. PVD iyodin ile sterilizasyon sağlandı. T5-T12 arası orta hattan insizyon yapılarak açıldı. Paravertebral kaslar sıyrılarak laminalar açığa çıkartıldıktan sonra T7-T8-T9 laminektomi yapıldı. Spinal kord açığa çıkarıldıktan sonra 3mm çapında ve 10 gr ağırlığında bir çelik çubuk 10 cm'den omurilik üzerine düşürülerek Allen ağırlık düşürme modeli ile yaralanma oluşturuldu (38). Travmanın hemen sonrasında ağırlık kaldırıldı, adaleler ve cilt insizyonu 3.0 ipek iple dikildi. Travma oluşturulduktan 30 dakika sonra ve 1 hafta boyunca günde bir kez 4000ppm/kg dozda intraperitoneal olarak gruplara göre zahter ve dağ nanesi ekstraktları verildi. Kontrol grubuna ise aynı dozda serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. 36 adet Wistar Albino sıçan her bir grupta 6 adet olacak şekilde 6 gruba ayrıldı.

1. Grup: Kontrol: Sağlıklı deney grubunu oluşturan bu gruptaki sıçanlara travma oluşturulmadı. Sadece plasebo olarak, bir hafta süresince intraperitoneal yolla 4000ppm /kg/gün dozda serum fizyolojik uygulandı.

2. Grup: Zahter: Sağlıklı deney grubunu oluşturan bu gruptaki sıçanlara travma oluşturulmadı. 4000ppm /kg/gün %1lik etanol çözeltisinde çözünmüş halde zahter bir hafta süresince intraperitoneal yolla uygulandı.

3. Grup: Dağ nanesi: Sağlıklı deney grubunu oluşturan bu gruptaki sıçanlara travma oluşturulmadı. 4000ppm /kg/gün %1lik etanol çözeltisinde çözünmüş halde dağ nanesi bir hafta süresince intraperitoneal yolla uygulandı.

4. Grup: Travma: Bu gruptaki sıçanlara travma oluşturuldu. Plasebo olarak, bir hafta süresince intraperitoneal yolla 4000ppm /kg/gün dozda serum fizyolojik uygulandı.

5. Grup: Travma+zahter: Bu gruptaki sıçanlara travma oluşturuldu. 4000ppm /kg/gün%1lik etanol çözeltisinde çözünmüş halde zahter bir hafta süresince intraperitoneal yolla uygulandı.

6. Grup: Travma+dağ nanesi: Bu gruptaki sıçanlara travma oluşturuldu. 4000ppm /kg/gün %1lik etanol çözeltisinde çözünmüş halde dağ nanesi bir hafta süresince intraperitoneal yolla uygulandı.

Travma oluşturulduktan bir gün sonra sıçanların motor fonksiyonları Tarlov skalası motor işlev skoru yöntemine göre değerlendirildi (118).

Motor muayenenin değerlendirilmesi Tarlov skalasına göre motor muayenenin gözlemlenerek kaydedilmesiyle yapıldı. Motor yanıtlar; 0: Tam plejik; 1: Eklemlerde minimal hareket mevcut; 2: Arka bacaklarını iyi oynatıyor fakat ayağa kalkamıyor; 3: Ayağa kalkabiliyor fakat normal olarak yürüyemiyor; 4: Normal olarak yürüyebiliyor, şeklinde değerlendirildi. Buna göre Omurilik travması oluşturulan 18 sıçanın paraplejik olduğu görüldü.

8. günde tüm gruplardaki sıçanlar ketamin anestezisi altında kardiyak ponksiyonla kan örnekleri alındıktan sonra feda edilerek histopatolojik ve immunohistokimyasal inceleme için spinal kord dokuları alındı. İmmunohistokimyasal incelemede; Vascular

Endothelial Growth Factor (VEGF), Glial fibriler asidik protein (GFAP)), N-Cadherin, S-100 proteinine bakıldı. İmmunohistokimyasal inceleme için, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Glial fibriler asidik protein (GFAP), N-Cadherin, S100 primer antikorları kullanıldı. Aynı zamanda biyokimyasal olarak Malondialdehit (MDA), total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) parametrelerine bakıldı.

4.1.1. Sıçan torakal spinal travma modelini gösteren şimatik resimler



Resim 4.1.Sıçanın prone pozisyonunda yerleştirilmesi



Resim 4.2. Sıçanlarda tam kesi oluşturulması ve paravertebral kasları ayırma



Resim 4.3. Ratlarda laminektomi sonrası medulla spinalisin ortaya çıkarılması



Resim 4.4. Ağırlık düşürülerek omurilik hasarı oluşturulması



Resim 4. 5. İnsizyonun primer sütürasyon

4.2. Bitki  rnekleri ve Uçucu Ya larının Elde Edilmesi

Thymbra spicata L. var. *spicata* (zahter) ve *Cyclotrichium origanifolium* (da  nanesi) türleri doğadan toplanarak gölgede kurutulmuştur. Gölgede kurutulan bitkilerin toprak üstü kısımları küçük parçacıklar haline getirilmiş ve distilasyon aygıtı (Clevenger aparatı) içinde sıcak su ile kaynatılmı tır. Oluşan buhar ile sürüklenen uçucu ya  so utucuda yo unla tırılarak bir kaptaki toplanmıştır. Elde edilen uçucu ya lar +4  C'de Sodyum sülfat (Na_2SO_4) içerisinde bekletilerek içerdiği sudan kurtarılmı tır (119). Uygulama için etanol çözücüsü ile 4000 ppm ($\mu\text{g}/\text{ml}$) konsantrasyonda stok   zeltile hazırlanmıştır.

4.3. Biyokimyasal Analiz

Alınan kan örnekleri 3500 rpm' de 20 dakika boyunca santrifüj edilerek serumları alındı. Serum  rnekleri biyokimyasal analiz yapılana kadar -80  C' de saklandı. Serumda TAS (total antioksidan seviye), TOS (total oksidan seviye) ve Malondialdehit (MDA) değerleri ölçüldü. Klinik kimya testleri, Abbot firmasının Architech marka

C1600 model Otoanalizörü cihazında çalışıldı. Serumda TAS, TOS testleri Fotometrik çalışıldı.

4.3.1. Serum MDA Ölçümü

Serum MDA düzeylerinin ölçümü Ohkawa yöntemiyle belirlendi (119). Tiyoarbitürik asitle (TBA) reaksiyona giren MDA'nın reaksiyon sonucu meydana gelen pembe renkli maddenin 532 nm'de, n-bütanole karşı absorpsiyonunun spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipid peroksidasyonunun derecesi belirlendi. Serum örneklerinde MDA düzeyleri $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

4.3.2. Serum TAS Ölçümü

Örneklerin TAS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edilir (120).

4.3.3. Serum TOS Ölçümü

Örneklerin TOS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanır. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L olarak ifade edilir (121).

4.4. Doku Takibi

Spinal kord dokuları rutin parafin doku takibine alındı. Fiksasyon (24 saat) işleminden sonra dokular yıkama (1 gece), artan alkol serileri (%50, %70, %80, %90, %96 ve absolü etil alkol serilerinden geçirildi) ve şeffaflaştırma (ksilende 3x30 dakika) işlemlerinin ardından 58°C' de parafin infiltrasyonuna alındı. Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü ve mikrotom (katalog no: Leica RM2265, Wetzlar, Germany) yardımıyla bloklardan Hematoksilin-Eozin boyamalar için 4-6 μm kalınlığında kesitler alındı.

4.5. Hematoksilen-Eozin Boyama

Parafin bloklardan alınan spinal kord kesitleri 37°C'ye ayarlanmış benmariye alındı. Lam üzerinde fazla parafini eritmek için kesitler 58-62°C etüvde 6 saat boyunca bekletildi. Kesitler 3x15 dakika ksilende deparafinize edildi. Kesitler azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70, %50 etil alkol) 10'ar dakika geçirildi ve distile suya getirilerek 5 dakika bekletildi. Harris Hematoksilen boyasında 8 dakika bekletildikten sonra kesitler akar su altında 5 dakika yıkandı. Kesitler durulandı ve alkolik eozin boyasında 6 dakika bekletildi. Kesitler artan alkol serilerine (%80, %90, %96 etil alkol serilerinden geçirilerek) hızlıca daldırıldı ve absölü alkolde 2 dakika bekletildi. Son olarak kesitler 3x15 dakika ksilende bekletildi ve doku üzerine Entellan damlatılarak lamelle kapatıldı. Kesitler A2 imager Zeiss ışık mikroskobu altında incelendi.

4.6. İmmunohistokimyasal Boyama

Parafin bloklardan alınan kesitler 37°C' ye ayarlanmış benmariye ve buradan polilislinli lamlara alındı. Lam üzerinde fazla parafini eritmek için kesitler 58-62°C etüvde 6 saat boyunca bekletildi. Kesitler 3x15 dakika ksilende deparafinize edildi. Kesitler azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70, %50 etil alkol) 10'ar dakika geçirildi ve distile suya getirilerek 5 dakika bekletildi. Kesitler fosfat tampon solüsyonunda (PBS) 3x5 dakika yıkandı. Kesitler EDTA buffer solüsyonuna (pH:8.0, katalog no: ab93680, Abcam,Cambridge, USA) alındı ve ısı-indüklü epitope retrieval işlemi gerçekleştirildi. 20 dakika oda sıcaklığına bırakılan kesitler tekrar PBS'e alındı. Kesitler immunohistokimya barına dizildi, barın nemliliğini ve sıcaklığı kontrol edildi. Kesitlere hidrojen peroksit solüsyonu (katalog no: TA-015-HP, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) damlatılıp 20 dakika inkübe edildi. Ardından PBS ile 3X5 dakika yıkama yapıp, Ultra V Block (katalog no: TA-015-UB, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) solüsyonunda 7 dakika bekletildi. Kesitler, anti-NCAD (katalog n: sc-8424, Santa Cruz Biotechnology, Inc. Bergheimer Str. 89-269115 Heidelberg, Germany), anti-GFAP (katalog no: sc-58766, Santa Cruz Biotechnology, Inc. Bergheimer Str. 89-269115 Heidelberg, Germany) , anti-VEGF (katalog no: sc- 7269, Santa Cruz Biotechnology, Inc. Bergheimer Str. 89-269115 Heidelberg, Germany) ve anti-S100 (katalog no: sc-53438 Santa Cruz Biotechnology, Inc. Bergheimer Str. 89-269115

Heidelberg, Germany) antikorları ile bir gece +4°C’de overnight edildi. Ertesi gün kesitler oda sıcaklığına bırakılarak 30-60 dakika bekletildi. PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine biotinli sekonder antikor (katalog no: TP-015-BN, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) damlatılıp 14 dakika kadar inkübe edildi. Daha sonra streptavidin-peroxidase (katalog no: TS-015-HR, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) damlatılıp 15 dakika beklendikten sonra PBS ile yıkama yapıldı. Yıkanan kesitlerin üzerine Diaminobenzidin (DAB) (katalog no: TA-001-HCX, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) damlatılıp reaksiyon mikroskop altında izlendi ve PBS ile durduruldu. Harris hematoksilen ile zıt boyama yapıldıktan sonra kesitler entellan (katalog no:107961, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States) ile kapatılıp, Zeiss Imager A2 fotomikroskopunda değerlendirilip görüntülendi.

4.7. İstatistiksel Analiz

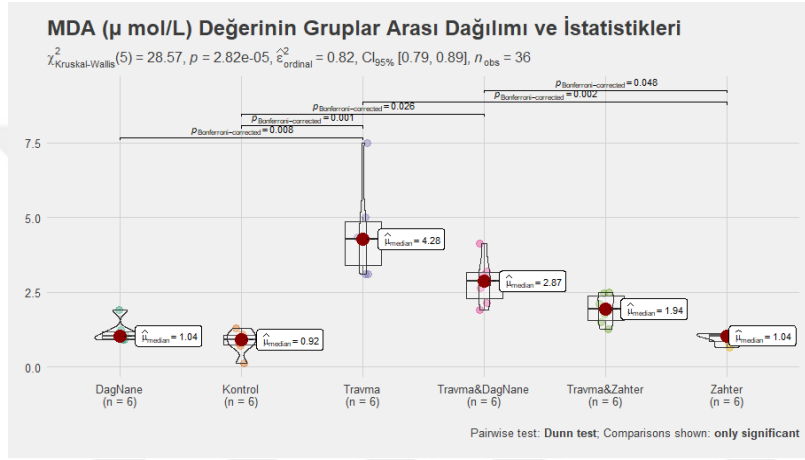
Deney gruplarının tümü değerlendirilirken, istatistiksel analizler için R stüdyo IDE programının R 3.6.3 versiyonu kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken verinin tümünde parametrik test varsayımlarını gerçekleştiremediğimizden dolayı, ikiden fazla gruplar arası farkları test etmek için parametrik olmayan istatistiksel testlerden **Kruskal-Wallis** tercih edilmiştir. Veri hacminin azlığından ve veri yapısının parametrik olmayan testlere uygunluğundan Tip-I hata riskini azaltmak ve testin gücünü arttırmak açısından **Bonferroni düzeltmesi** ile **post-hoc testlerden Dunn** kullanılmıştır. Ayrıca çalışma öncesi **Mahalanobis uzaklığı** kullanılarak veri setindeki uç değerler irdelenmiş fakat uç değer tespit edilmemiştir. Sonuçların $p < 0.05$ olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5. BULGULAR

5.1. İstatistiksel veriler

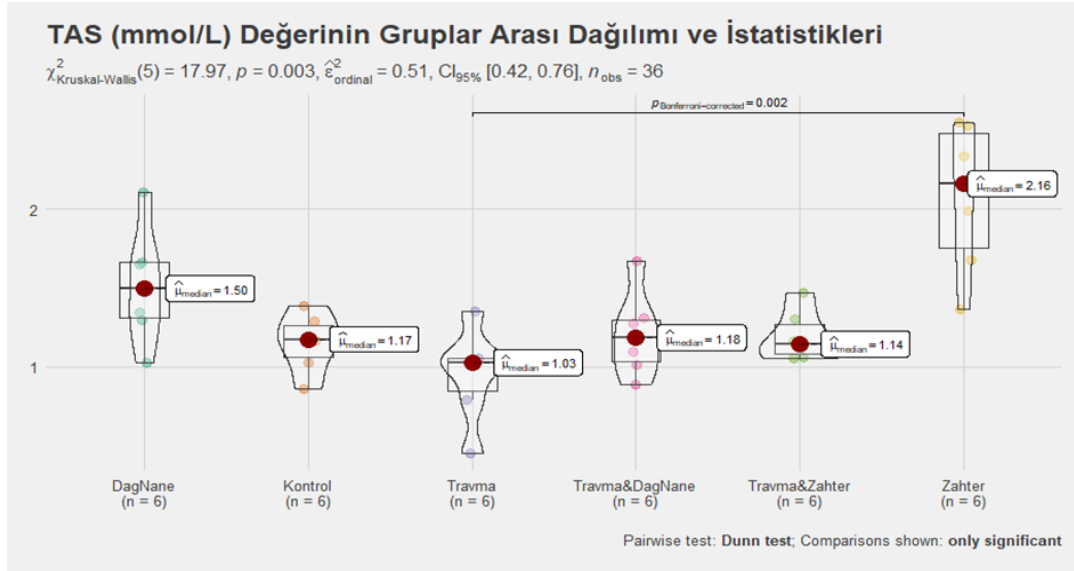
Araştırma kapsamında yer alan çalışma gruplarından elde edilen verilere ilişkin hem betimleyici istatistikler hem de test istatistikleri, her bağımlı değişken için tek görsel ile sunulmuş ve irdelenmiştir.

5.2. Serumda bakılan biyokimyasal parametreler



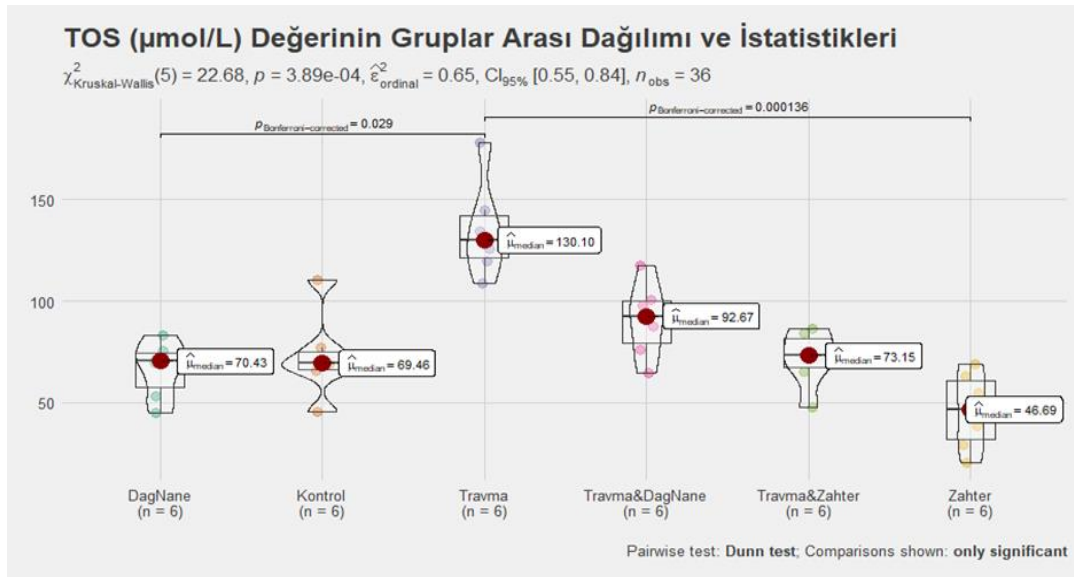
Şekil 5.1. Grupların serum MDA değerleri

Oksidatif stresin göstergesi ve lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan serum MDA değerinde; travma grubunda, kontrol, dağ nanesi ve zahter gruplarına göre anlamlı artış bulundu ($p=0,008$, $p= 0,001$, $p=0,002$). Travma+dağ nanesi grubundaki MDA artışı ise kontrol ve zahter gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu($p=0,026$, $p=0,048$). Travma+zahter ile travma+dağ nanesi gruplarında travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasada MDA değerinin düştüğü görüldü ($p> 0.05$) (Şekil 5.1.).



Şekil 5.2. Grupların serum TAS değerleri

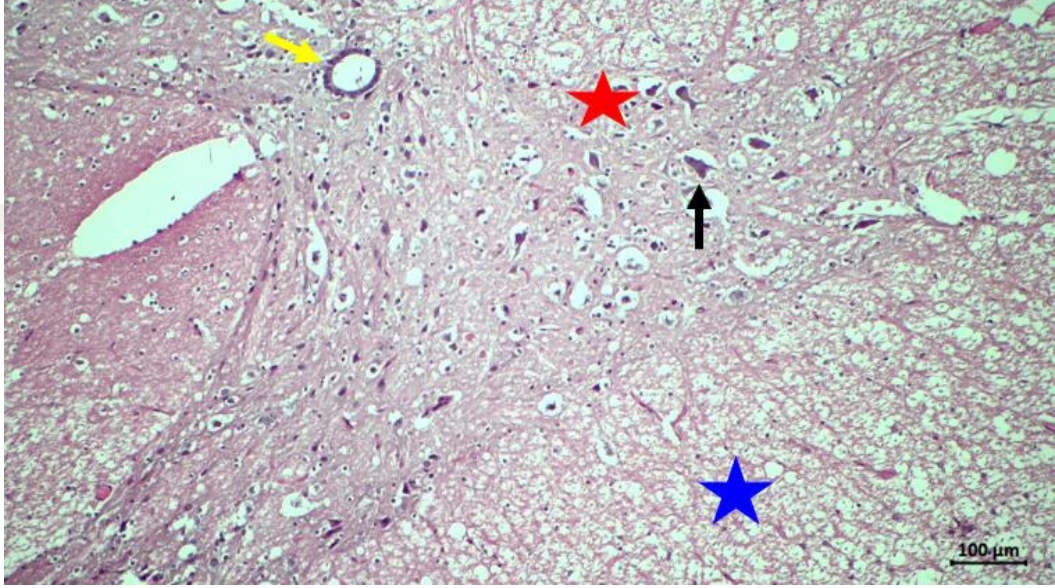
Serum TAS düzeyinde zahter grubunda travma grubuna göre anlamlı artış görüldü ($p=0,002$). Travma+zahter ile travma+dağ nanesi gruplarında travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasada TAS değerinin arttığı görüldü (Şekil 5.2.).



Şekil 5.3. Grupların serum TOS değerleri

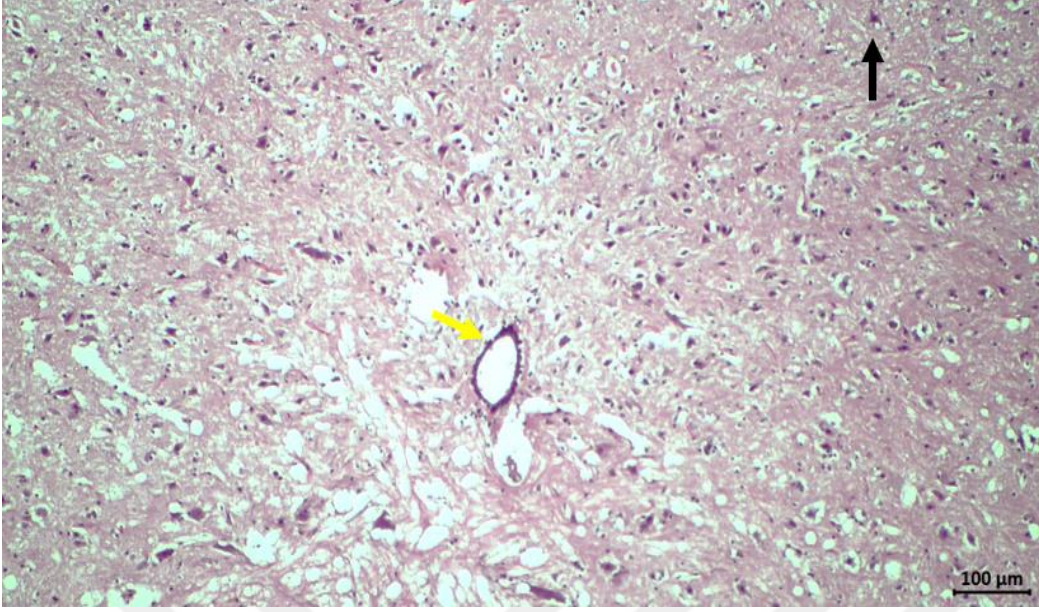
Serum TOS düzeyinde travma grubunda, dağ nanesi ve zahter gruplarına göre anlamlı artış bulundu ($p=0,029$, $p= 0,0001$). TOS değeri, Travma+zahter ile travma+dağ nanesi gruplarında kontrol grubuna göre artarken, travma grubuna göre ise istatistiksel olarak anlamlı olmasada düştüğü görüldü (Şekil 5. 3.).

5.3. Hematoksilen Eozin Boyamaları



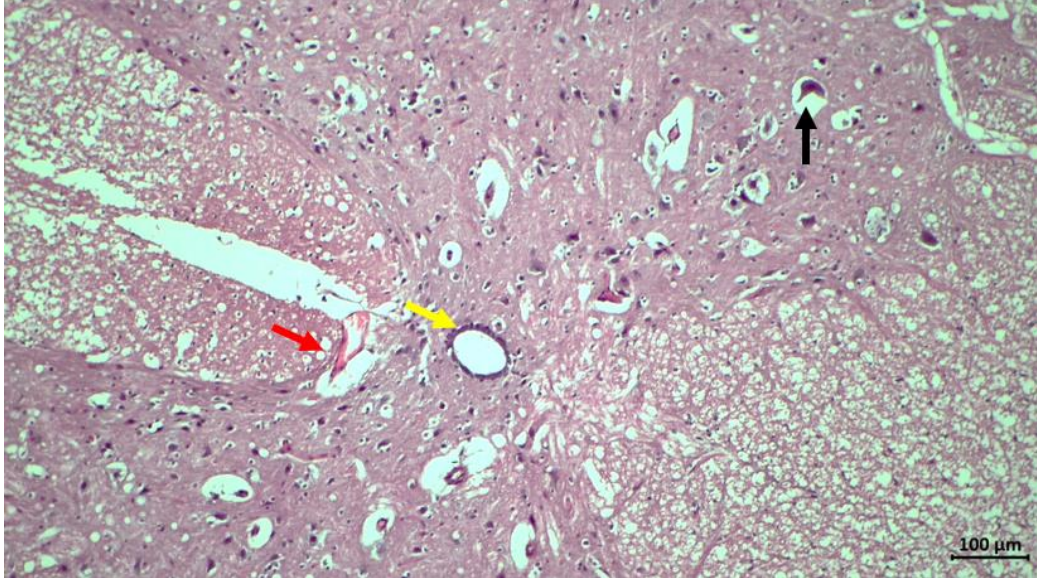
Şekil 5.4. Kontrol grubu Hematoksilen Eozin boyaması

Substansiya grisea bölgesinde multipolar motor nöronların (siyah ok) normal, kanalis centraliste endepimal hücrelerin düzenli yerleştiği (sarı ok), substansiya alba bölgesinde aksonların uzantılarının (mavi yıldız) düzgün dağıldığı gözlemlendi. Bu grupta patolojiye rastlanılmadı (Şekil 5. 4).



Şekil 5.5. Zahter grubu Hematoksilen Eozin boyaması

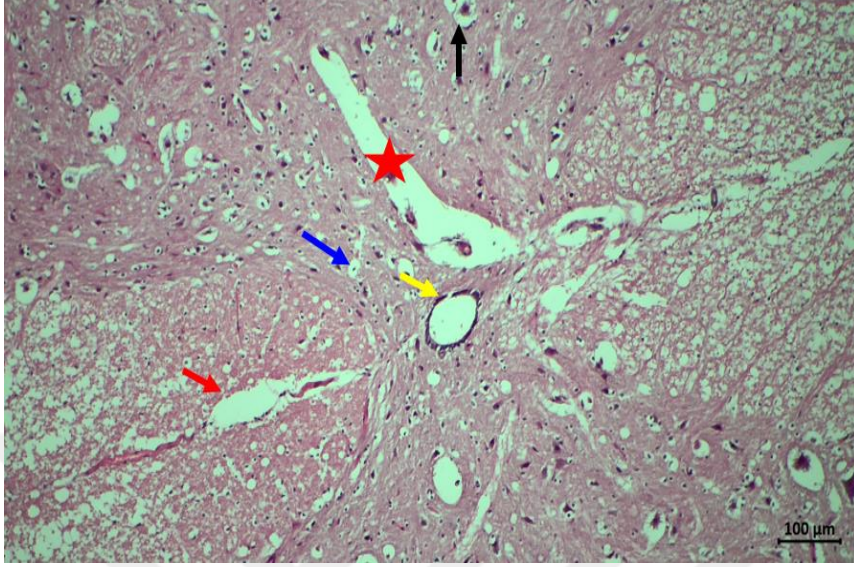
Genel olarak kontrol grubu ile benzer histoloji gösterdi. Multipolar nöron hücreleri (siyah ok) ve mikrogial hücreleri normal izlendi. Kanalis centralis hücreleri (sarı ok) düzgün yerleşimli idi (Şekil 5. 5.).



Şekil 5.6. Dağ nanesi grubu Hematoksilen Eozin boyaması

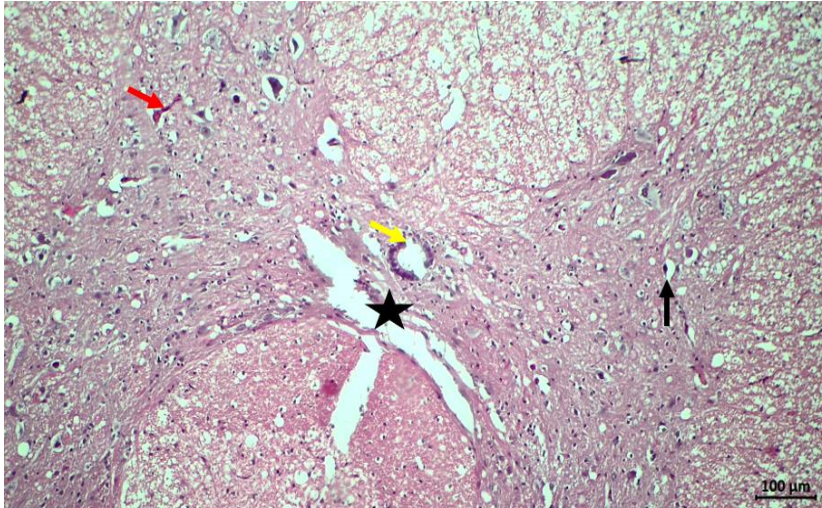
Genel olarak kontrol grubu ile benzer histoloji gösterdi. Substansiya albada miyelinli aksonların düzenli dağıldığı, grisea bölgesindeki kanalis santralis (sarı ok) ve motor

nöron hücreleri (siyah ok) normal olarak izlendi. Yer yer vasküler dilatasyon (kırmızı ok) izlendi (Şekil 5. 6).



Şekil 5.7.Travma grubu Hematoksilen Eozin boyaması

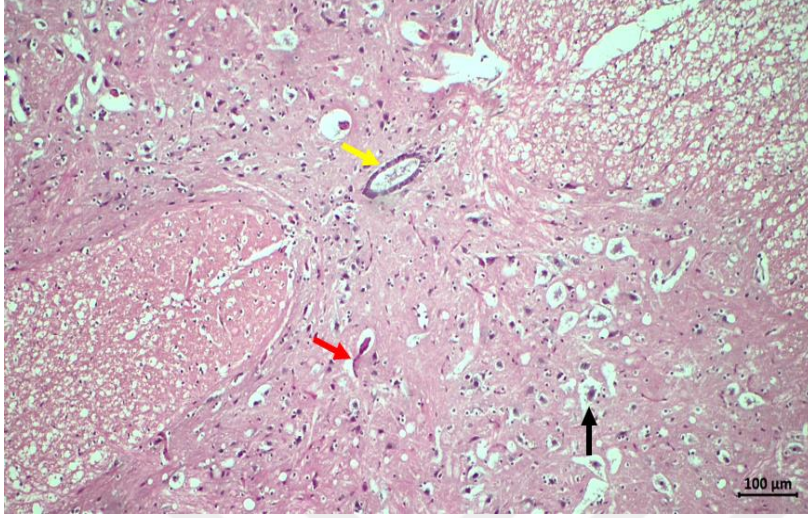
Bu grupta belirgin olarak damar dilatasyonunun yanında (kırmızı yıldız), multipolar nöron hücrelerinde dejenerasyon (siyah ok), kanalis centralisin bütünlüğünün bozulması (sarı ok), sulcus mediana posterirda kesintiler (kırmızı ok), ve nöroglia hücrelerinde piknosis, apopitotik değişimler (mavi ok) izlendi (Şekil 5. 7).



Şekil 5.8. Travma+zahter grubu Hematoksilen Eozin boyaması

Bu grupta yer yer damar dilatasyon/konjesyonla (kırmızı yıldız) beraber, multipolar nöron hücrelerinin bazılarında atrofi (siyah ok), kanalis centralis hücrelerinde

dejenerasyon (sarı ok), bazı alanlarda doku bütünlüğünde bozulmalar (siyah yıldız) izlendi. Bu grupta spinal hasarın azaldığı görüldü (Şekil 5. 8).



Şekil 5.9. Travma+dağ nanesi grubu Hematoksilen Eozin boyaması

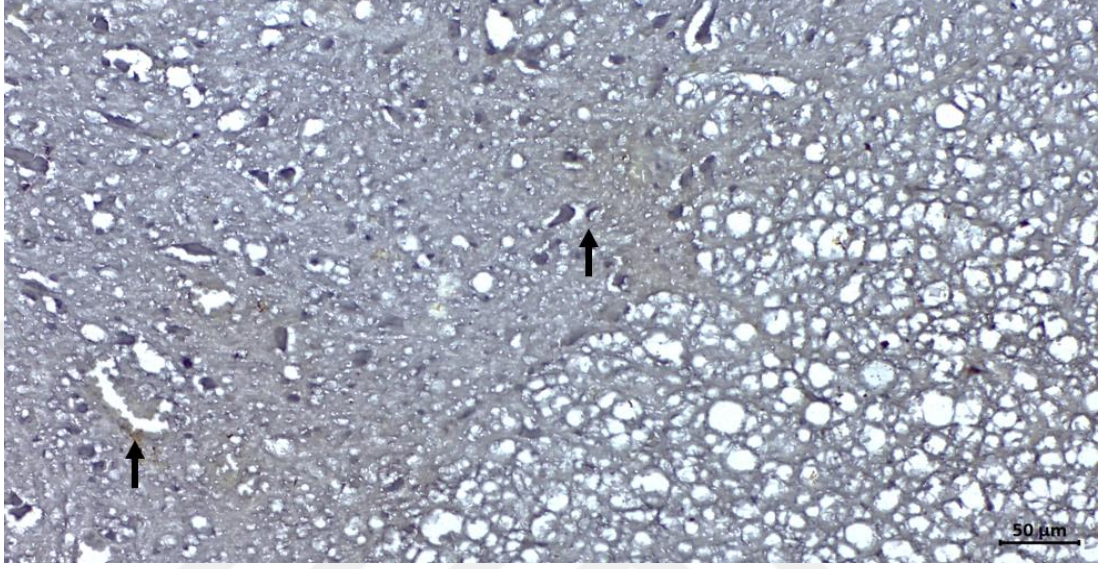
Bu grupta yer yer damar dilatasyon/konjesyonla (kırmızı ok) beraber, multipolar nöron hücrelerinin bazılarında atrofi (siyah ok), kanalis centralis hücrelerinin düzgün (sarı ok) izlendi. Bu grupta travma hasarına bağlı gelişen hasarın hafif düzeyde olduğu görüldü (Şekil 5.9).

5.4. Hematoksilen Eozin boyaması

Kontrol grubunda substansiya grisea ve albanın normal görünümde olduğu gözlemlendi. Substansiya griseadaki multipolar motor nöron hücrelerinin normal yapıda olduğu, kanalis santralisin endependimal hücrelerce düzgün döşendiği ve mikrogliyal hücrelerin normal histolojik yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 5.4). Zahter ve dağ nanesi gruplarında vasküler dilatasyon ve konjesyon dışında kontrol grubuna yakın histoloji gözlemlendi (Şekil 5.5. ve 5.6). Travma grubunda, multipolar nöron hücrelerinde dejenerasyon, kanalis centralis yapısında bozulma, substansiya grisea/alba bölgelerinde doku bütünlüğünün bozulduğu, genel medulla spinalis histolojik yapının bozulduğu gözlemlendi (Şekil 5. 7). Travma+zahter ve travma+dağ nanesi gruplarında spinal hasarın büyük ölçüde iyileştiği, medulla spinalisin normal histolojik görünümüne döndüğü ancak iyileşmenin travma+zahter grubuna göre travma+dağ nanesi grubunda daha fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 5.8. ve 5.9).

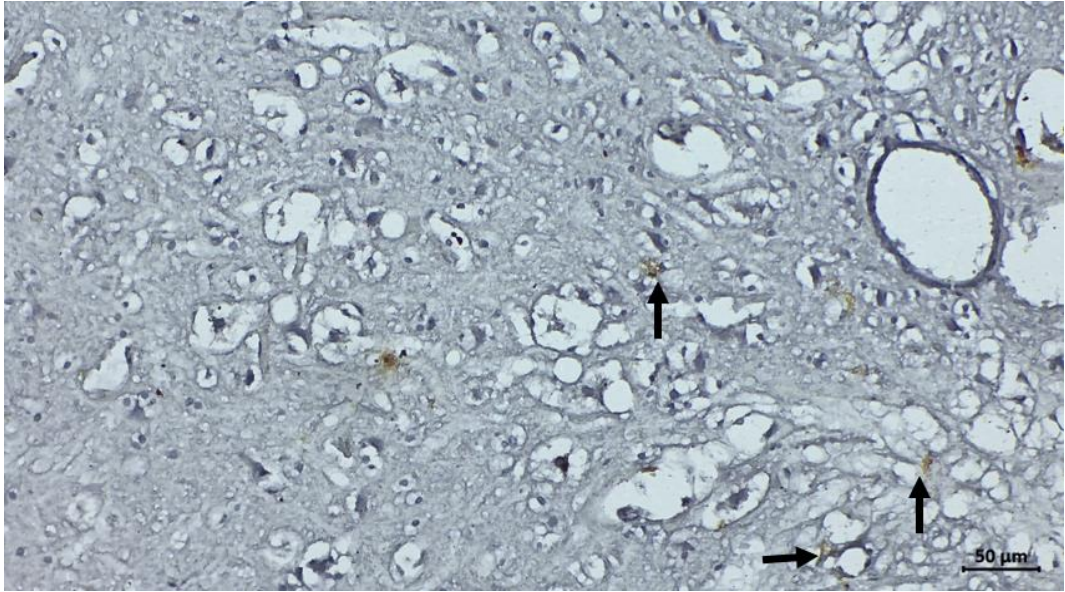
5.5. Spinal kord dokusunun immunohistokimya boyamaları

5.5.1. VEGF İmmunohistokimya Boyamaları



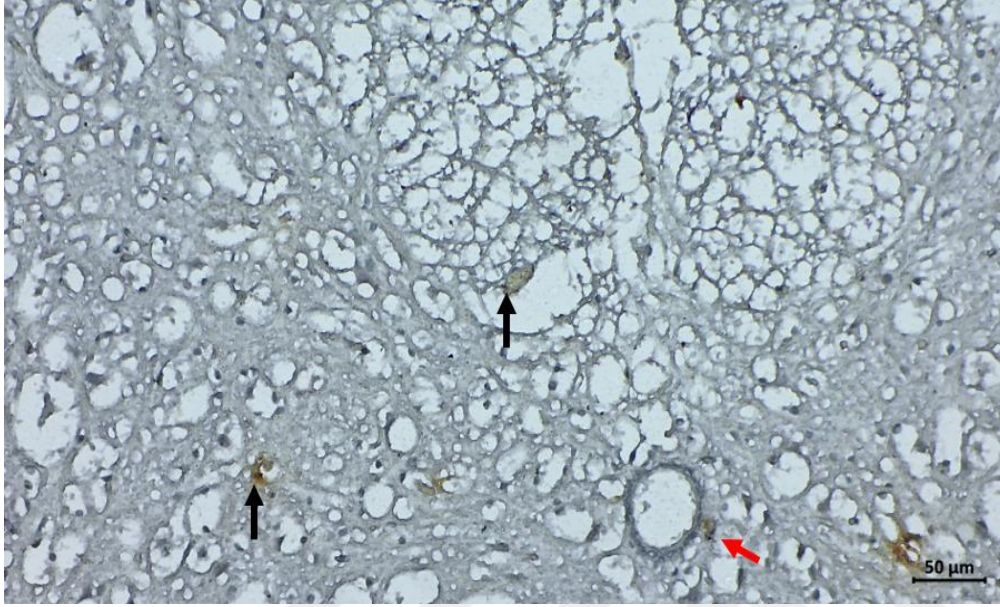
Şekil 5.10. Kontrol grubu VEGF immunohistokimya boyaması

Medulla spinalisin lateral bölgesinde, damar duvarındaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu (siyah oklar) belirgin idi (Şekil 5.10).



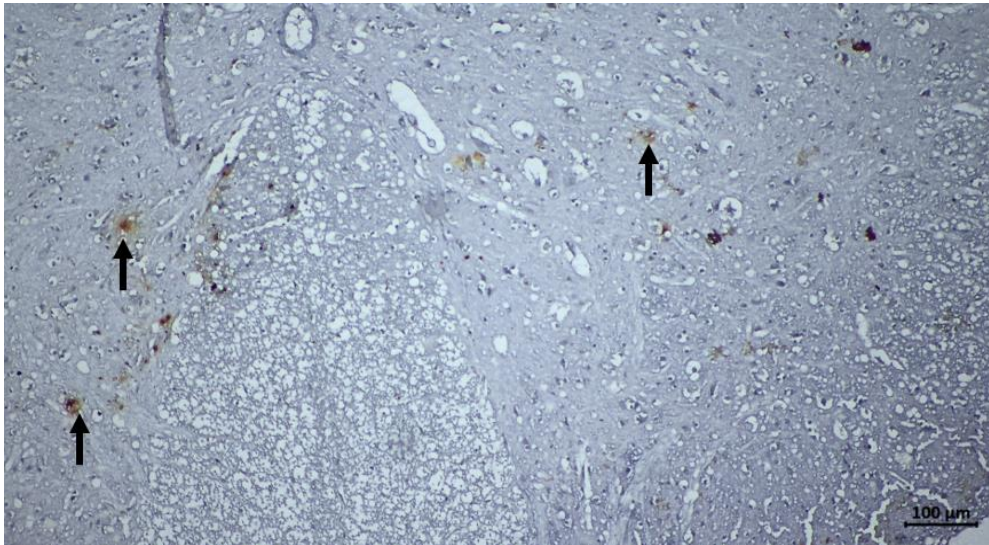
Şekil 5.11. Zaher grubu VEGF immunohistokimya boyaması

Lateral bölgedeki küçük damarlardaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu (siyah oklar) belgindi (Şekil 5.11.)



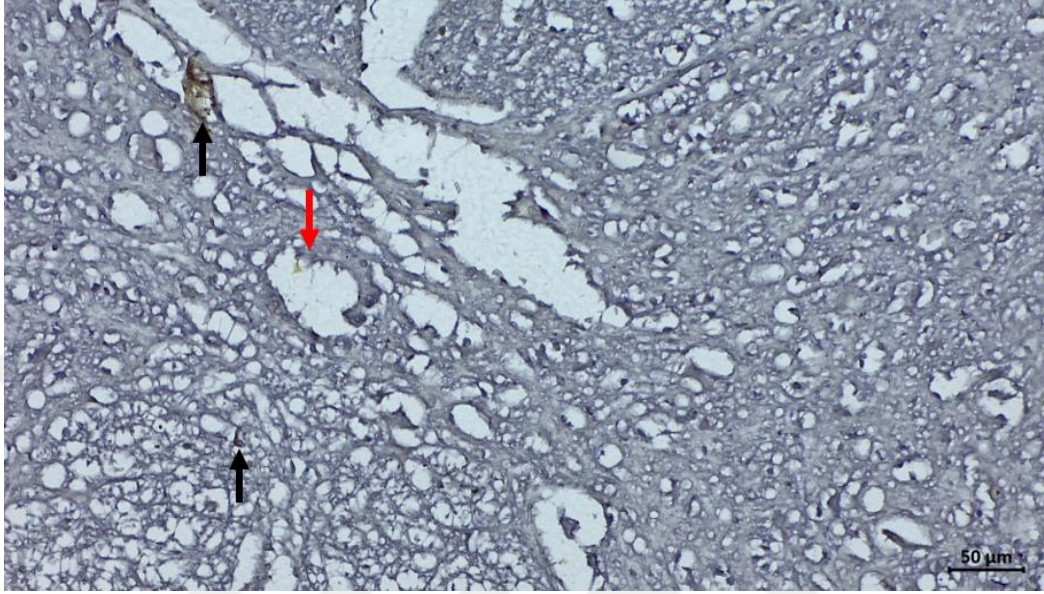
Şekil 5.12. Dağ nanesi grubu VEGF immunohistokimya boyaması

Kanalis santralisteki ependimal hücrelerde (kırmızı ok) ve substansiya alba ve griseadaki küçük damalarda VEGF ekspresyonu (siyah oklar) pozitif olarak gözlemlendi (Şekil 5.12).

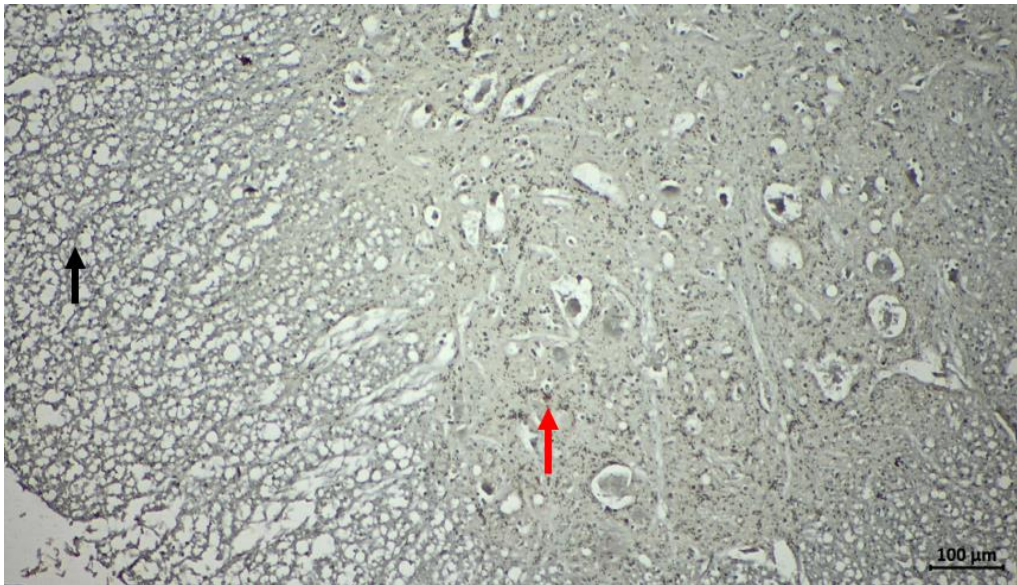


Şekil 5.13. Travma grubu VEGF immunohistokimya boyaması

Özellikle substansiya grisea alanındaki damarlarda VEGF ekspresyonu (siyah oklar) pozitif olarak izlendi (Şekil 5.13).



Şekil 5.14. Travma+zahter grubu VEGF immunohistokimya boyaması
Kanalis centralis'te (kırmızı ok) ve etrafındaki damarlarda pozitif VEGF ekspresyonu (siyah oklar) izlendi (Şekil 5.14).



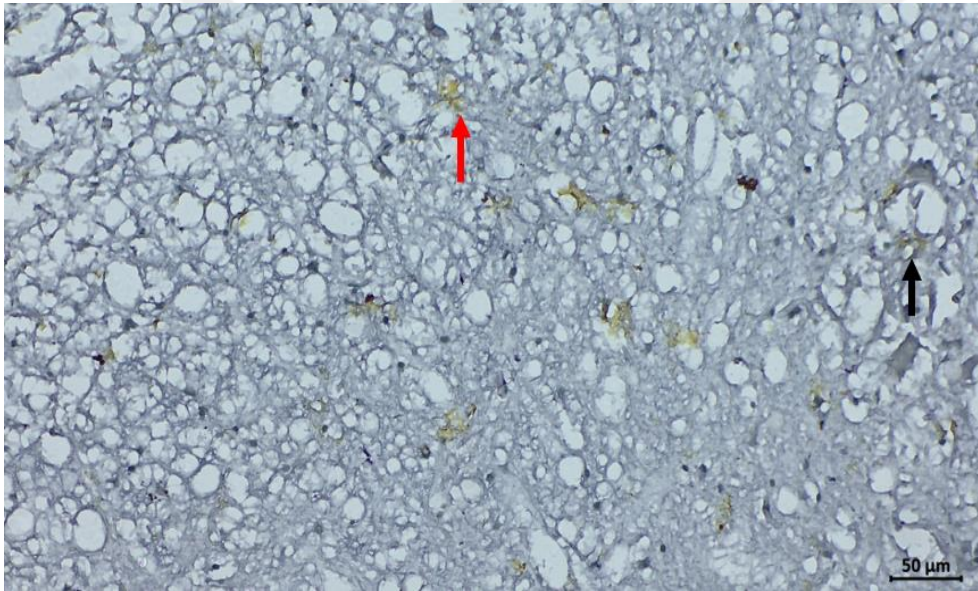
Şekil 5.15. Travma+dağ nanesi grubu VEGF immunohistokimya boyaması

Medulla spianalisin lateral boynuzunda substansiya grisea (siyah ok) ve albadaki (kırmızı ok) yer alan küçük damarlarda VEGF ekspresyonu izlendi (Şekil 5.15).

VEGF ekspresyonu kontrol grubunda hafif düzeyde izlenirken (Şekil 5. 10), zahter (Şekil 5.11) ve dağ nanesi grubunda (Şekil 5. 12) kontrol grubuna hafif düzeyde artan ekspresyon izlendi.

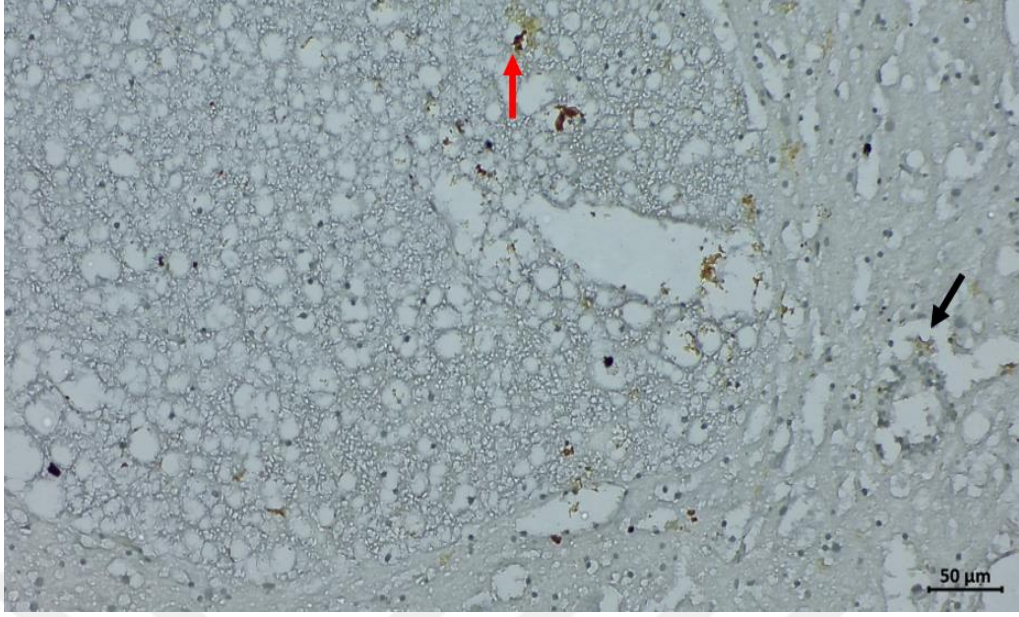
Travma grubunda yoğun izlenen VEGF ekspresyonu (Şekil 5.13), travma+zahter (Şekil 5.14) ve travma+dağ nanesinde (Şekil 5.15) bu ajanların etkisi ile düzelen histopatolojik sonucu VEGF ekspresyon düzeyi azalıp kontrol grubuna doğru yaklaşmıştır.

5.5.2. GFAP İmmunohistokimya Boyamaları



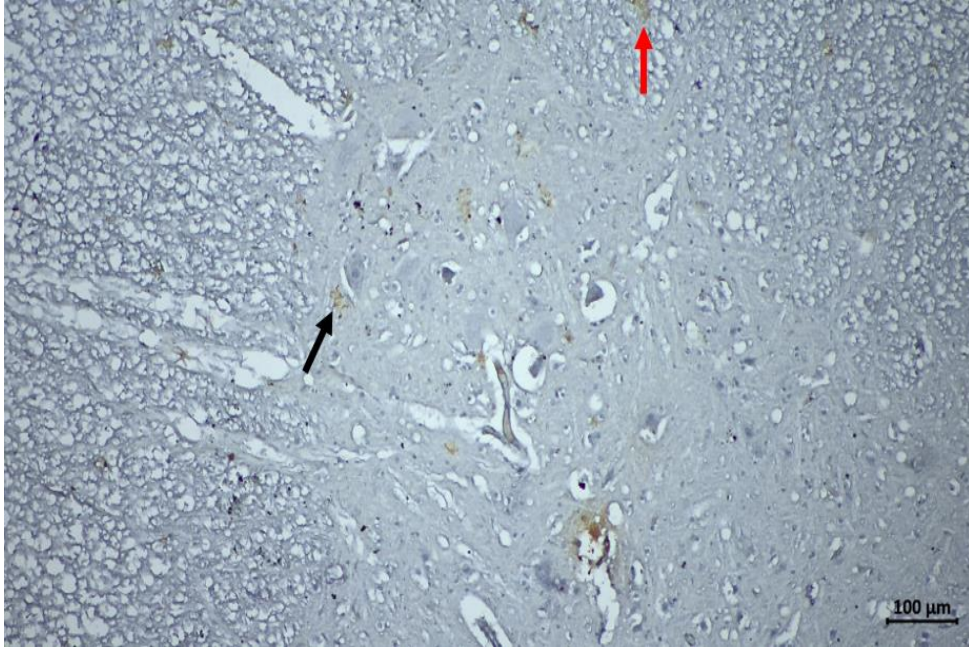
Şekil 5.16. Kontrol grubu GFAP immunohistokimya boyaması

Substansiya albadaki miyelinli sinir uzantılarında GFAP ekspresyonu (kırmızı ok) yoğun izlendi. Substansiya griseadaki multipolar motor nöron uzantılarında da GFAP ekspresyonu (siyah ok) izlendi (Şekil 5.16).



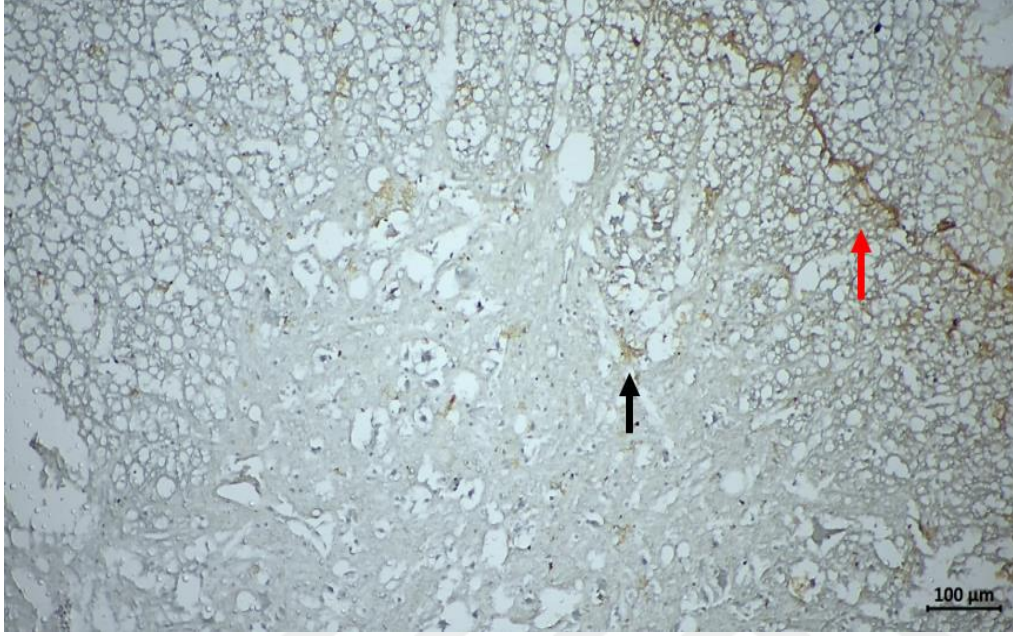
Şekil 5.17. Zahter grubu GFAP immunohistokimya boyaması

Zahter grubunda, özellikle substansiya albadaki sinir liflerinde GFAP ekspresyonu (kırmızı ok) belirgin olarak gözlemlendi. Substansiya griseada yer yer küçük nöronlarda GFAP ekspresyonu (siyah ok) izlendi (Şekil 5.17).



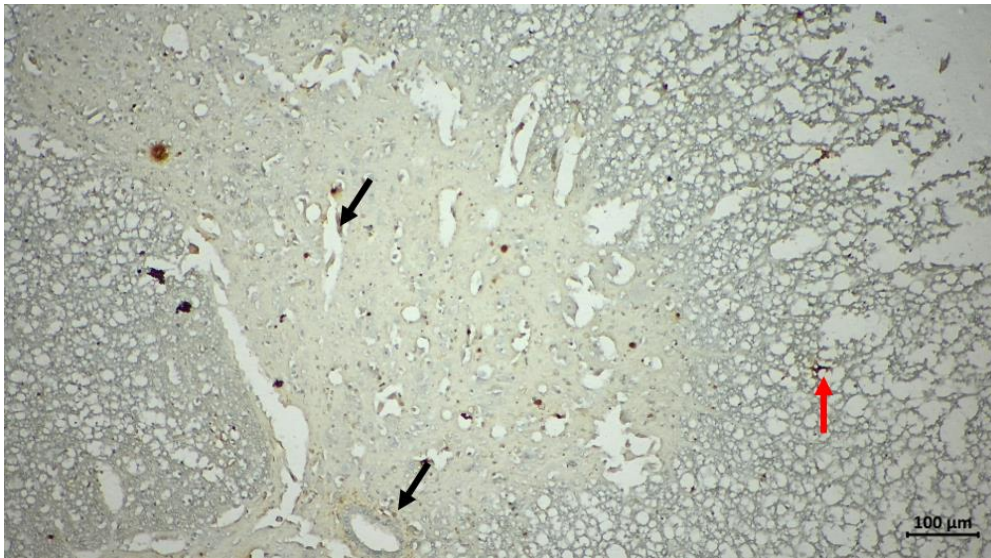
Şekil 5.18. Dağ nanesi grubu GFAP immunohistokimya boyaması

Substansiya albadaki miyelinli sinir uzantılarında GFAP ekspresyonu (kırmızı ok) belirgin olarak gözlemlendi. Substansiya griseadaki multipolar motor nöronların etrafındaki küçük nöronlarda GFAP ekspresyonu (siyah ok) izlendi (Şekil 5.18).



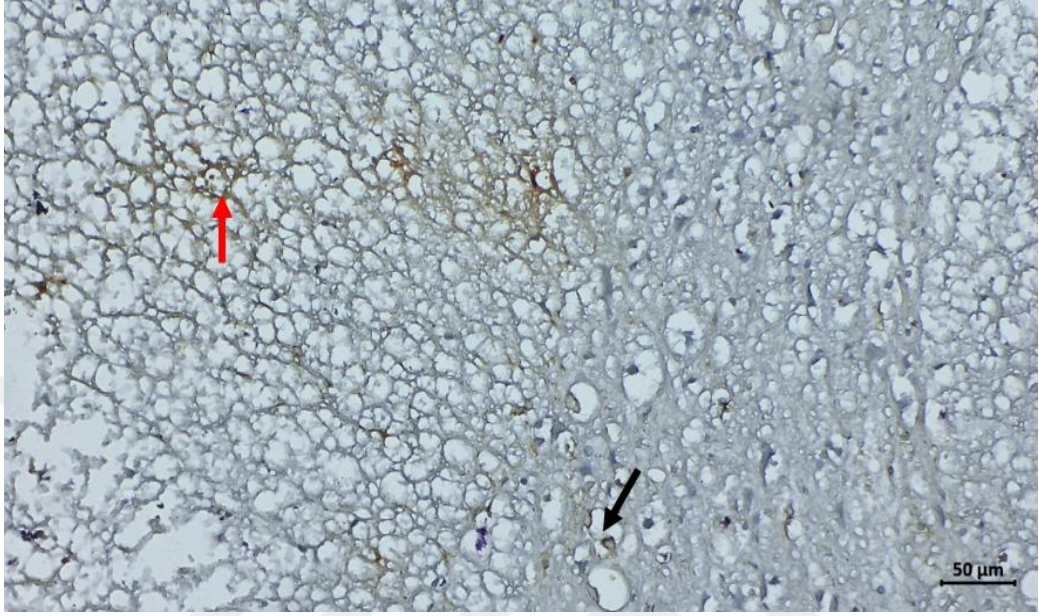
Şekil 5.19. Travma grubu GFAP immunohistokimya boyaması

Medulla spinalisin substansiya griseadaki funiküler hücrelerin (siyah ok) yoğun olduğu bölgede GFAP ekspresyonu pozitif olarak izlendi. Substansiya alba bölgesindeki sinir lif uzantılarında yoğun GFAP ekspresyonu (kırmızı ok) izlendi (Şekil 5.19).



Şekil 5.20. Travma+zahter grubu GFAP immunohistokimya boyaması

GFAP ekspresyonu, özellikle substansiya griseadaki kanalis centralis ve nöronlarda görülürken (siyah oklar), substansiya albadaki sinir liflerinde yer yer GFAP ekspresyonu (kırmızı ok) izlendi (Şekil 5.20).



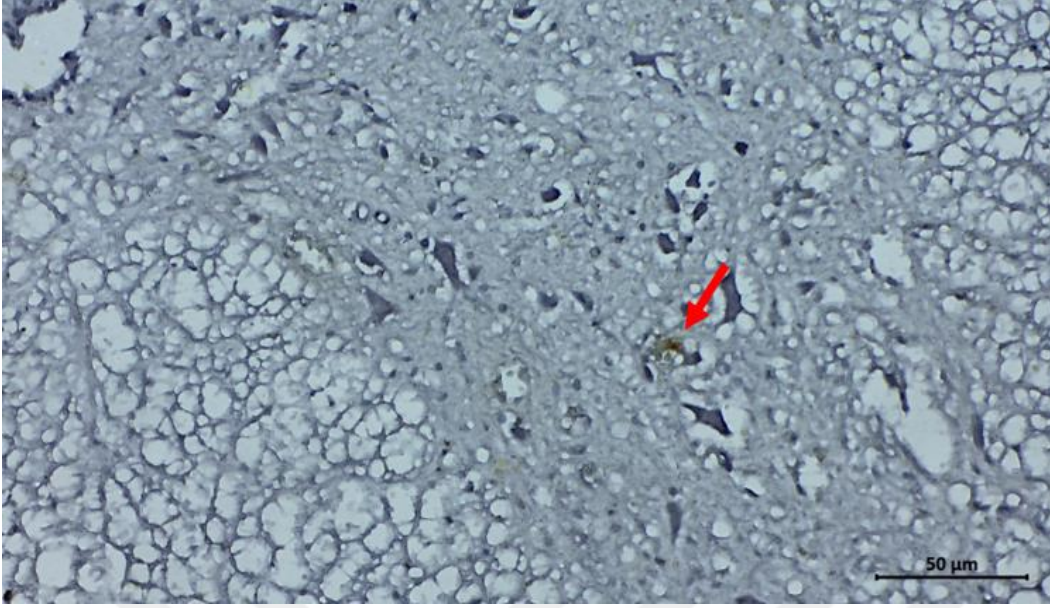
Şekil 5.21. Travma+dağ nanesi grubu GFAP immunohistokimya boyaması

Substansiya albadaki miyelinli sinir uzantılarında GFAP ekspresyonu (kırmızı ok) belirgin olarak gözlemlendi. Substansiya griseadaki ön boynuzdaki küçük nöronlarda GFAP ekspresyonu (siyah ok) izlendi (Şekil 5.21).

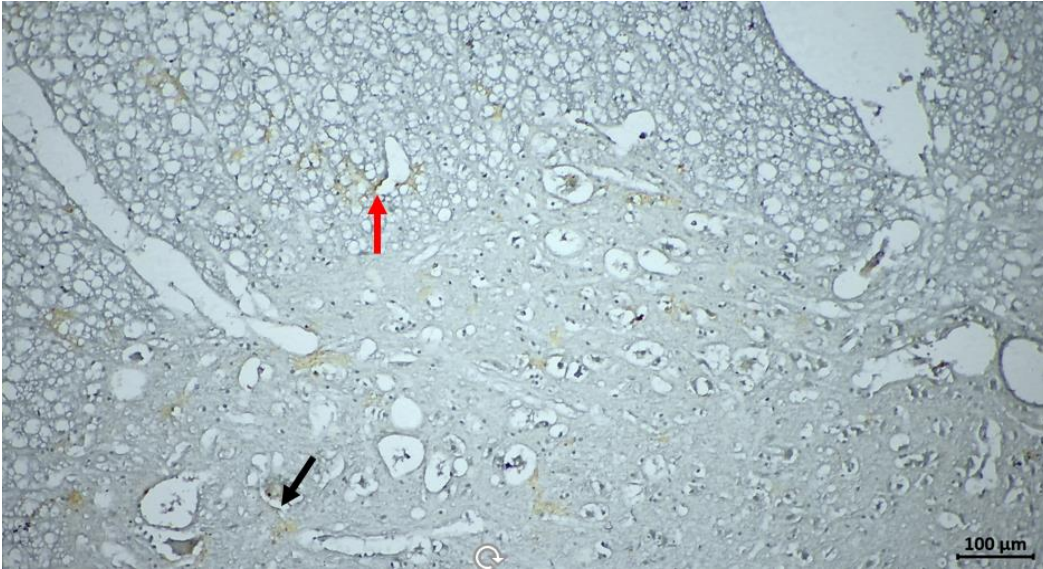
GFAP ekspresyonu kontrol grubunda hafif düzeyde görülürken (Şekil 5.16), zahter (Şekil 5.17) ve dağ nanesi grubunda (Şekil 5.18) kontrol grubuna yakın düzeyde ekspresyon izlendi.

Travma grubunda GFAP ekspresyonu yoğun düzeyde gözlenirken (Şekil 5.19), travma+zahter (Şekil 5.20) ve travma+dağ nanesinde (Şekil 5.21) GFAP ekspresyonu travma grubuna göre daha az izlendi. Zahter ve dağ nanesinin nöron hasarı üzerinde olumlu etkileri görülmüştür ancak dağ nanesinin iyileştirici etkisinin daha yoğun olduğu izlendi.

5.5.3. N-Cadherin İmmunohistokimya Boyamaları

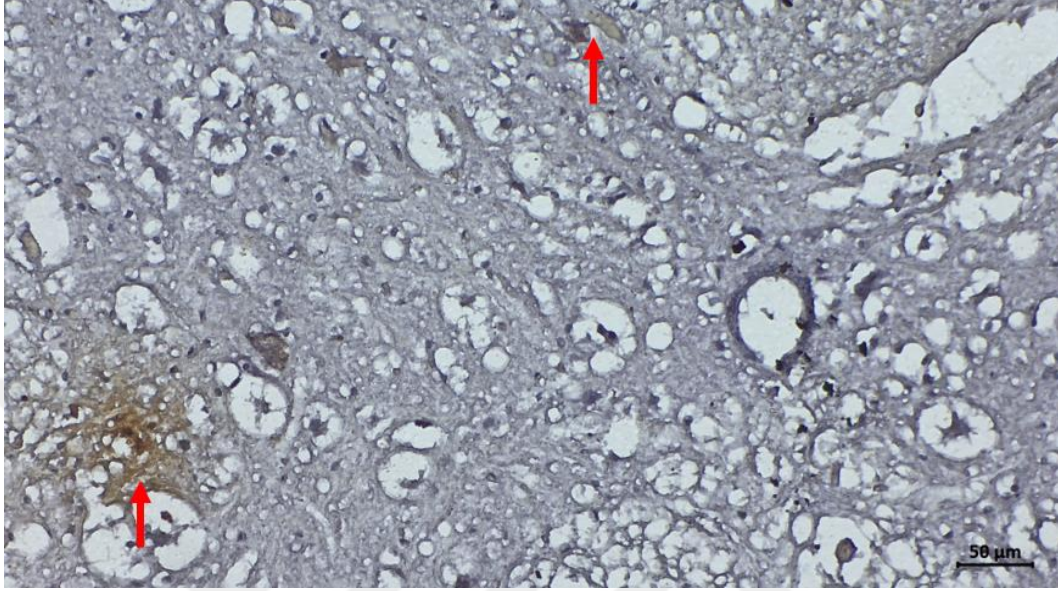


Şekil 5.22. Kontrol grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması
Substansiya griseanın ön boynuzda nöronlar arasındaki bağlantı bölgelerinde N-cadherin ekspresyonu (kırmızı ok) izlendi (Şekil 5.22).



Şekil 5.23. Zahter grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması

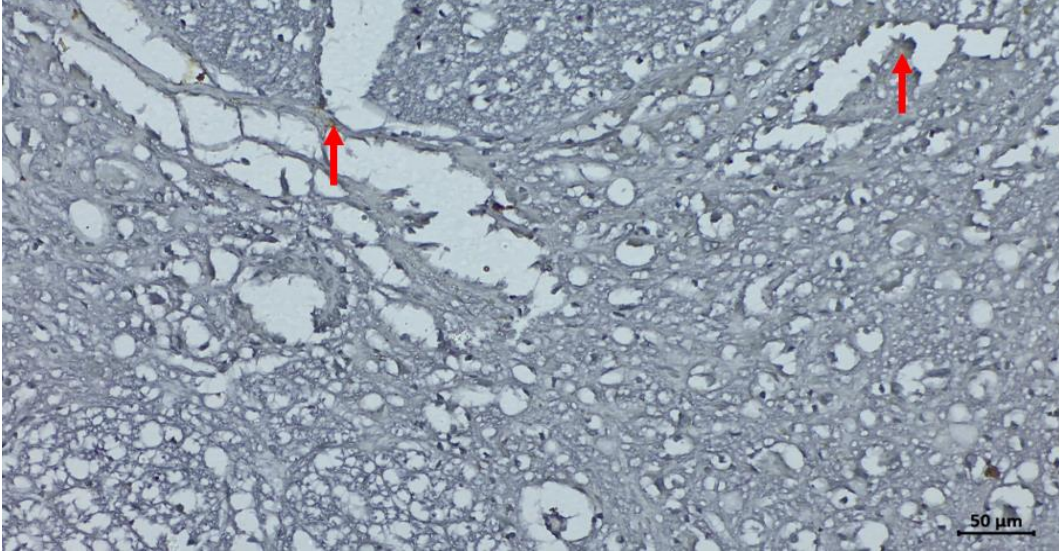
Substansiya albadaki miyelinli sinir uzantıları arasında N-cadherin ekspresyonu (kırmızı ok) belirgin olarak gözlemlendi. Substansiya griseada nöronlar arası bağlantıda N-cadherin ekspresyonu (siyah ok) izlendi (Şekil 5.23).



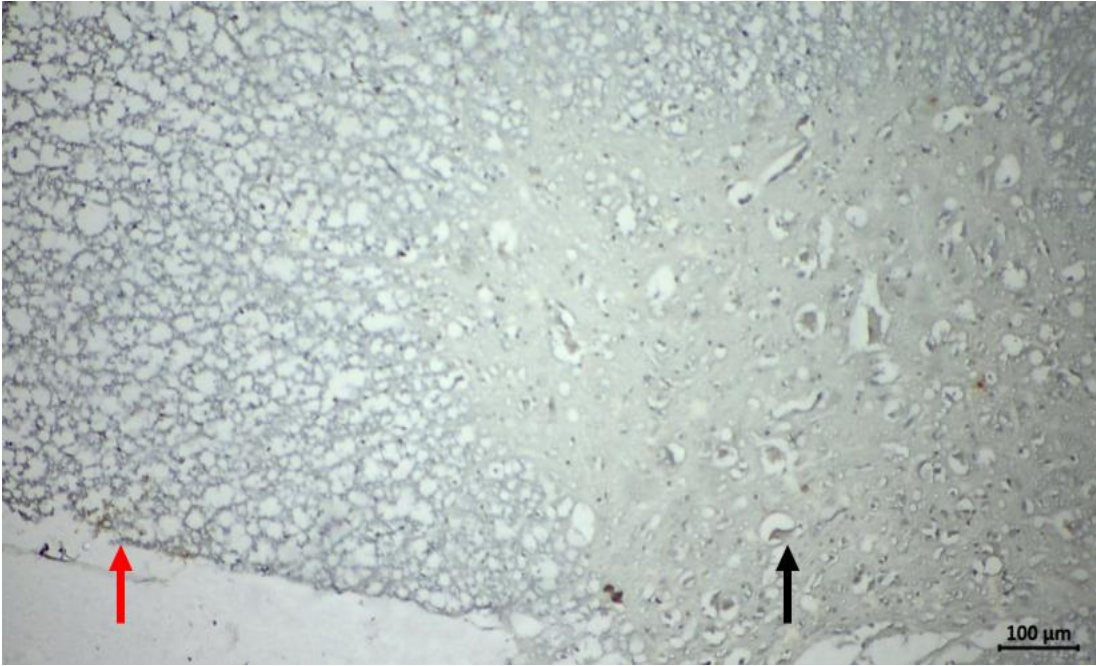
Şekil 5.24. Dağ nanesi grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması
N-cadherin ekspresyonu, nöronların membrane bölgelerinde ve glial ayakçıklarda (kırmızı ok) gözlemlendi (Şekil 5.24).



Şekil 5.25. Travma grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması
N-cadherin ekspresyonu özellikle substansiya griseada yer alan nöronların membran yapılarında (kırmızı ok) gözlemlendi (Şekil 5.25).



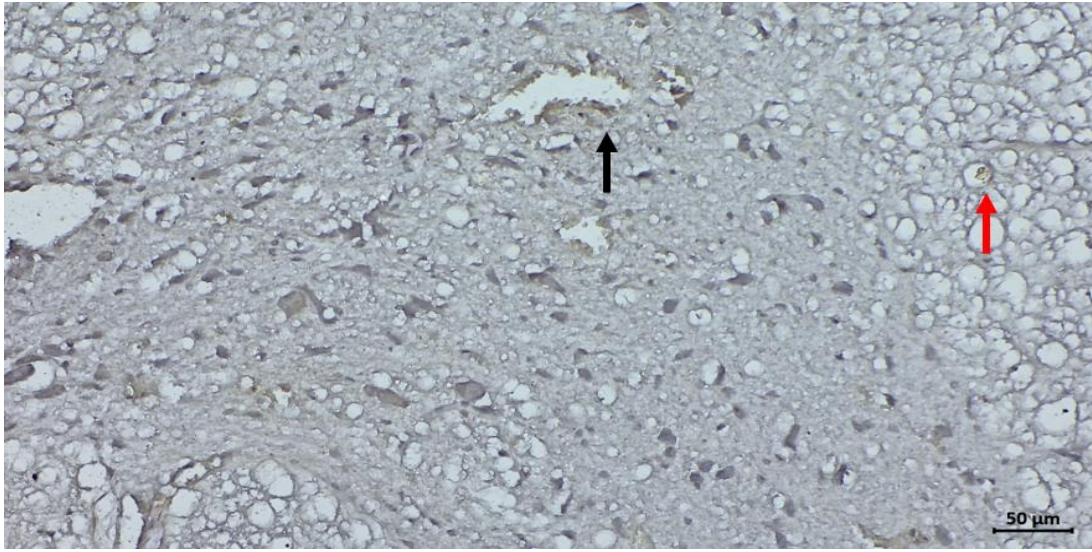
Şekil 5.26. Travma+zahter grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması
Substansiya griseada yer alan bazı nöronların uzantıları ve nöronlar arasında (kırmızı ok) N-cadherin ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 5.26).



Şekil 5.27. Travma+dağ nanesi grubu N-Cadherin immunohistokimya boyaması
Substansiya albadaki bazı sinir lifleri arasında (kırmızı ok) ve substansiya griseada yer alan multipolar motor nöronlardan çıkan uzantılarda (siyahok) N-cadherin ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 5.27).

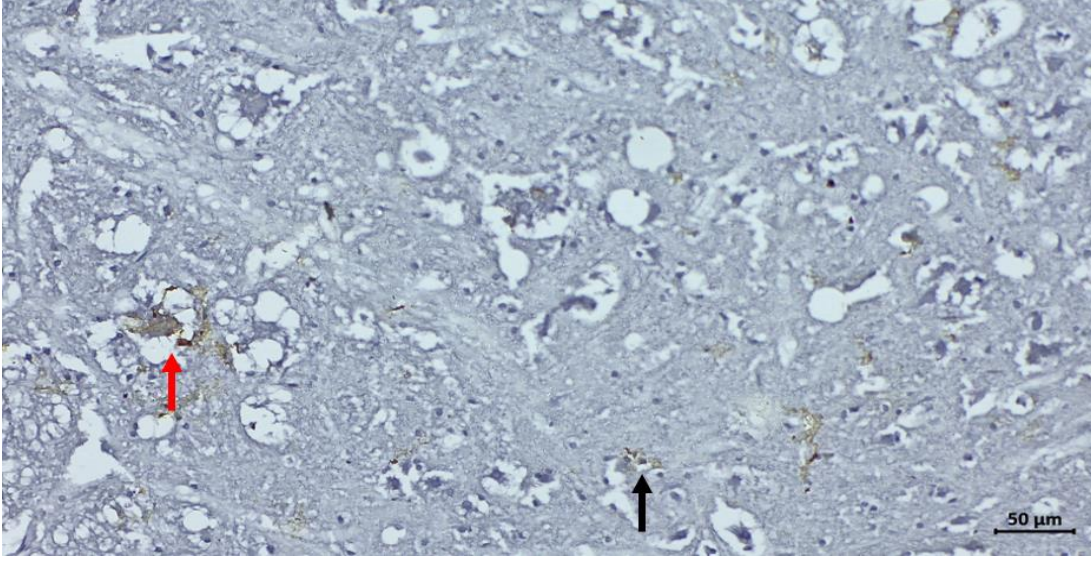
Kontrol grubunda (Şekil 5.22), zahter grubunda (Şekil 5.23), dağ nanesi grubunda (Şekil 5.24), travma grubunda (Şekil 5.25), travma+zahter grubunda (Şekil 5.26) ve travma+dağ nanesinde (Şekil 5.27) N-cadherin ekspresyonu yakın seviyelerde gözlendi. Dağ nanesi ve zahterin N-cadherin ekspresyonu üzerinde bir etkisi görülmedi.

5.5.4. S100 İmmunohistokimya Boyamaları



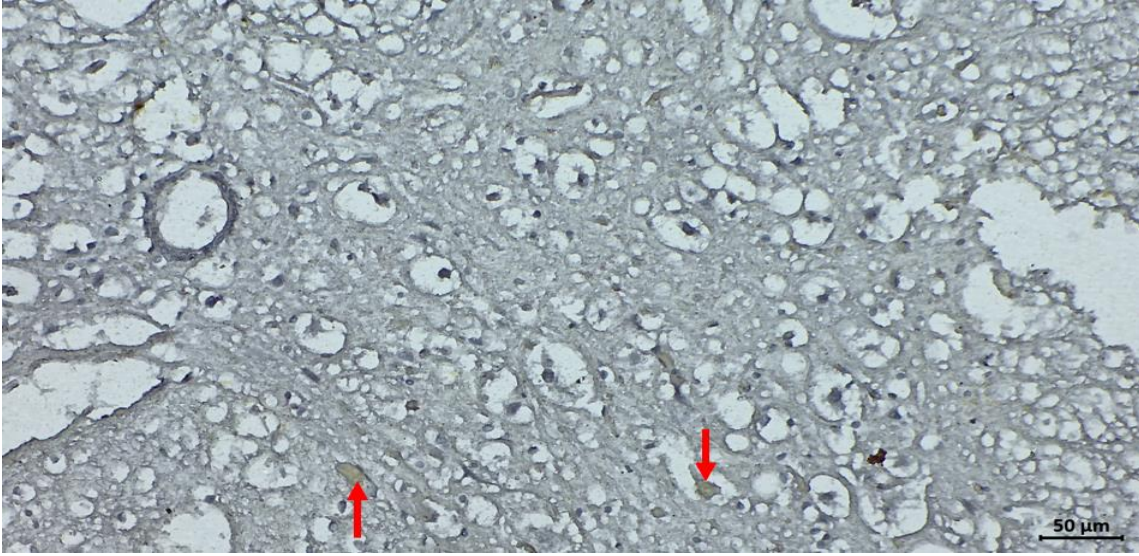
Şekil 5.28. Kontrol grubu S100 immunohistokimya boyaması

Funiküler ve radiküler hücrelerde S100 protein ekspresyonu (siyah ok) yoğun gözlendi. Substansiya albadaki sinir liflerinde S100 ekspresyonu (kırmızı ok) yer yer tespit edildi (Şekil 5.28).



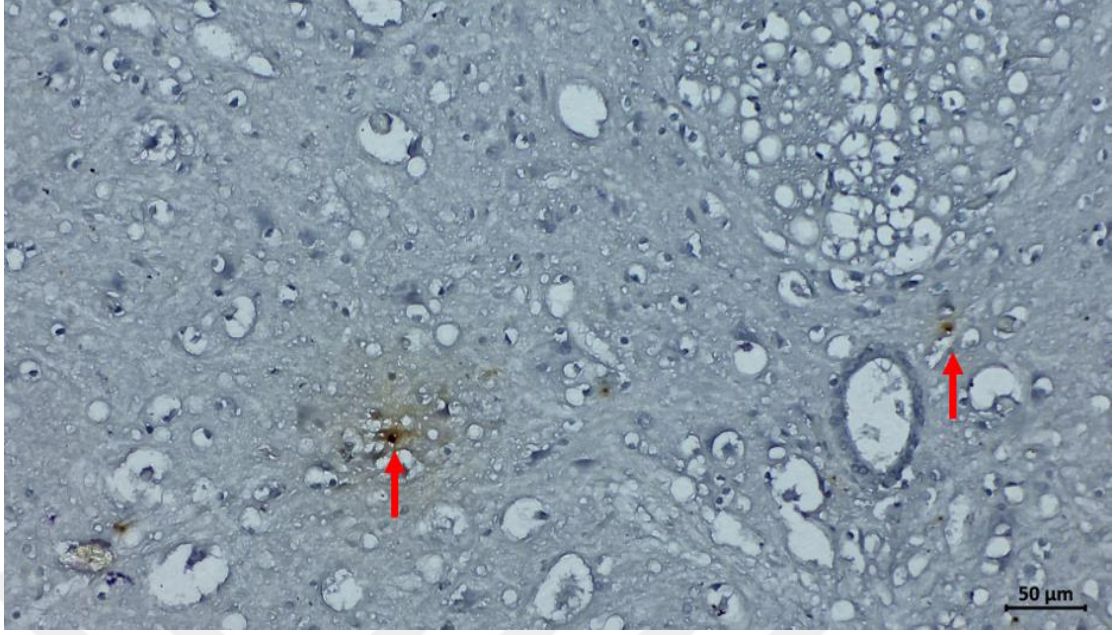
Şekil 5.29. Zahter grubu S100 immunohistokimya boyaması

Medulla spinalisin ön boynuzundaki multipolar motor nöronların uzantılarında ve membranlarında (kırmızı ok) ve ayrıca bazı glial hücrelerde (siyah ok) S100 ekspresyonu izlendi (Şekil 5.29).



Şekil 5.30. Dağ nanesi grubu S100 immunohistokimya boyaması

Medulla spinalisin ön boynuzundaki multipolar motor nöronların membranlarında (kırmızı ok) S100 ekspresyonu pozitif olarak izlendi (Şekil 5.30).



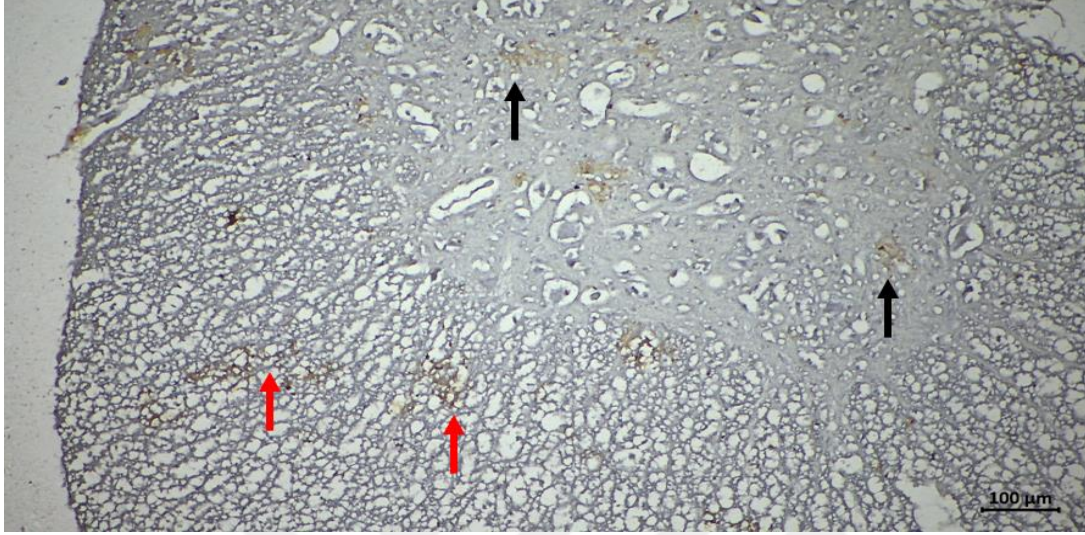
Şekil 5.31.Travma grubu S100 immunohistokimya boyaması

Medulla spinalisin kanalis centralise yakın bölgelerindeki nöron ve glial hücrelerde (kırmızı ok) S100 ekspresyonu pozitif olarak izlendi (Şekil 5.31).



Şekil 5.32. Travma+zahter grubu S100 immunohistokimya boyaması

Substansiya griseadaki kanalis centralis bölgesinde ve diğer alanlarda orta düzeyde S100 protein ekspresyonu (siyah ok) gözlemlendi. Substansiya albanın bazı bölgelerinde yer yer S100 ekspresyonu (kırmızı ok) görüldü (Şekil 5.32).



Şekil 5.33. Travma+dağ nanesi grubu S100 immunohistokimya boyaması

S100 ekspresyonu, hem substansiya griseada (siyah ok) hem de substansiya albadaki akson uzantılarında (kırmızı ok) damar çevresine sinir uzantılarda pozitif olarak gözlemlendi (Şekil 5.33).

Kontrol grubunda (Şekil 5.28.), zahter grubunda (Şekil 5.29.), dağ nanesi grubunda (Şekil 5.30.) ve travma grubunda (Şekil 5.31.) hafif düzeyde S100 proteini ekspresyonu gözlemlendi. Travma+zahter grubunda (Şekil 5.32.) ve travma+dağ nanesi grubunda (Şekil 5.33.) S100 ekspresyonu daha yoğun olarak izlendi. Dağ nanesi ve zahterin travma sonrası oluşan hasarı nöronal hücre büyümesi ve farklılaşması ve inflamatuvar yanıtı düzenleyerek azalttığı görüldü.

6. TARTIŞMA

Omurilik yaralanması, travma gibi nedenlerle omurilikte oluşan hasara bağlı olarak motor, duyu ve otonom işlevlerin kaybedilmesiyle oluşan yıkıcı bir durumdur. İş gücü ve gelir kaybının yanı sıra ömür boyu sürecektir tedavi ve bakım gerektirdiğinden etkilenen bireyler ve sağlık sistemi üzerinde yüksek maliyetleriyle olumsuz etkileri vardır (123).

Travmatik omurilik hasarı travmanın şiddetine ve yerine bağlı olarak farklı sonuçlar doğuran karmaşık bir durumdur. Sinir fonksiyonu etkilendiğinden vücudun travma noktasının altında kalan kısmında duyu ve motor fonksiyon kaybı gelişir.

Omuriliğin servikal bölgesinde oluşan hasar genellikle dört ekstremitede fonksiyon kaybını ifade eden quadriplejiye neden olur. Servikal segmentin altında torakal, lomber ve daha az sıklıkta görülen sakral segmentlerdeki hasar genellikle parapleji olarak adlandırılan alt ekstremitelerdeki fonksiyon kaybını ifade eder (124).

Omurilikteki yaralanma Komplet (tam kesi) ve inkomplet (kısmi kesi) şeklinde görülebilir. Tam kesi var olan motor ve duyu fonksiyonların tam kaybı, kısmi kesi de ise yaralanma seviyesinin altında motor ve duyu fonksiyonlarda azalmayla sonuçlanır.

Travmada ilk hasar spinal kordda olmakla birlikte birçok hastada nörojenik hasar sonucu oksidatif stres ve inflamatuvar yolların aktivasyonuna bağlı olarak diğer vücut sistemlerindeki fonksiyonel bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Kas iskelet sistemi bozuklukları başta olmak üzere kardiyovasküler, solunum ve ürogenital sistem bozuklukları sıklıkla görülmektedir.

Omurilik yaralanması birincil yaralanma ve ikincil yaralanma olmak üzere iki tür yaralanmanın birleşimidir. Birincil yaralanma travmanın ilk olduğu anda meydana gelen hasardır. Birincil yaralanma lezyonun çevresinde bir dizi fizyolojik yanıt başlatır. Bu yanıtlardan bazıları faydalı iken, çoğu yalnızca daha fazla hasara neden olur. İkincil yaralanma, vücudun birincil yaralanmaya verdiği fizyolojik tepkilerin zararlı etkilerinden oluşur (4). İkincil yaralanmanın zararlı süreçleri sinir dokusu ölümünü şiddetlendirerek lezyonu daha da genişletir ve sonuçta daha kötü bir prognoza yol açarak artan fonksiyonel kayıplara neden olur. Yaygın hemoraji, kan-

omurilik bariyerinin bozulması, İnflamasyonda artış, iskemi gibi patolojik durumlar sonucu birçok fonksiyon etkilenir (125, 126).

Birincil mekanik yaralanma ile birlikte yaralanma sonrası gelişen ikincil yaralanma sonucu görülen fonksiyonel kayıplar, nekroz ve daha geç görülmeye başlayan hücre içi ve hücre dışı arasındaki konsantrasyon değişikliklerinin, ekzositotoksitenin, apoptozisin, sistemik vasküler değişikliklerin, biyokimyasal olayların, serbest oksijen radikallerinin, lipid peroksidasyon ürünlerinin, immun cevabın ve enerji metabolizmasının rol aldığı kompleks olaylar dizisinin sonucudur (127).

Travmaya bağlı olarak hemoraji, iskemi ve doku hasarına karşı akut bir fizyolojik yanıt olarak bir dizi inflamatuvar olaylar ortaya çıkar. Akut inflamatuvar yanıt hücre ve dokuları hasardan korumak ve iyileşmeyi başlatmak için gerekli olup, koruyucu inflamatuvar yanıt oluşturmaktadır. Doğal iyileşme sürecini sağlamaya yönelik gelişen inflamatuvar yanıtın aşırı olması ve baskılanmasının gecikmesi durumunda dokuda proinflamatuvar medyatörlerin birikimine ve artan doku hasarına neden olur.

Spinal kord yaralanması sonrası oluşan hasar sadece omurilikle sınırlı kalmayıp tüm vücutta ağır ve geri dönülmesi zor patolojik durumlara neden olmaktadır (128).

Yapılan çalışmalar travma sonrası oluşan sekonder hasarın azaltılmasına ve önlenmesine odaklanmıştır. Belirgin yan etkileri olmasına rağmen omurilik yaralanmasının tedavisinde kullanılan tek ilaç Metilprednizolon' dur (129-131).

Günümüzde omurilik yaralanmasının mevcut tedavisinde yüksek doz metilprednizolon kullanılmaktadır. Çok tartışılan bir tedavi olmakla birlikte etkinliği sınırlıdır (132). Bu tedavinin fonksiyonel tedaviden uzak, köklü bir çözümü olmayan, geçici bir tedavi olduğu düşünülmektedir (132). Yaralanma sonrasında nöronal hasara sebep olan ikincil yaralanma mekanizmalarının anlaşılması, gelişmiş tedavi şekillerinin bulunması ve uygulanmasında en önemli faktördür (133). Araştırmacılar bir yandan omurilik yaralanmalarında etkili olan hücresel ve moleküler mekanizmalarını incelerken, öte taraftan yeni ve etkili terapötik hedefler bulma umuduyla çok sayıda araştırma yapmaktadırlar.

Omurilik yaralanmasında erken terapötik müdahale, mümkün olan maksimum düzelme sağlamak için çok önemlidir. Omurilik yaralanması sonucu oluşan hasarı

önleyebilecek veya tam olarak tedavi edebilecek bir yöntem tüm araştırmalara rağmen hala mevcut değildir. Spinal kord yaralanması sonrası fonksiyonel iyileşmeyi sağlamak için yeni terapötik stratejiler geliştirmeye ihtiyaç vardır.

Tıbbi aromatik bitkiler ilaç yapımında ve geliştirme sürecinde önemli rol oynar (6). Omurilik yaralanması sonucu oluşan ikincil hasar mekanizmaları göz önüne alındığında uygulanacak medikal tedavinin yüksek antioksidan ve antiinflamatuvar potansiyelinin olması başarılı tedavi olanağını artıracaktır (135). Yüzyıllardır halk arasında geleneksel olarak tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin modern tıp içinde etkilerini ortaya çıkaracak çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Omurilik hasarının tedavisinde de antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteleriyle bilinen bitkisel özlerden elde edilen çeşitli içerikler ve etken maddeler kullanılmıştır. Curcumin, resveratrol, Ginseng, quercitrin gibi bitkiler çeşitli deneysel çalışmalarda tedaviye aday olarak gösterilmiştir (135-137).

Zahter ve dağ nanesi bitki özleri doğal antioksidan potansiyeline sahip, çeşitli hastalıklarla ilgili inflamasyon ve ağrıyı tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan bitkilerdir. Genellikle akut ve kronik inflamasyonu önlemedeki güçlü etkisinden dolayı tıbbi amaçlar için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Omurilik yaralanmasının önlenmesinde de koruyucu rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. Bu amaçla antiinflamatuvar, antioksidan antibakteriyel ve nöroprotektif etkisi birçok çalışmada gösterilmiş olan zahter, dağ nanesi ekstraktları ve bunların bileşenlerinin Spinal kord hasarı üzerinde koruyuculuğu ve tedavi edici etkisini araştırdık.

Spinal kord hasarı ile ilgili yapılan çalışmalar artarak devam etmektedir. Zahterin en güçlü bileşeni olan Carvacrol 'ün spinal kord hasarı üzerinde nöroprotektif etkilerini değerlendirmek ve altta yatan mekanizmaları belirlemek için Jiang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; Sıçanlarda ağırlık düşürme yöntemi kullanılarak oluşturulan travma modelinde farklı dozlarda Carvacrol kullanmanın nörolojik fonksiyonları iyileştirdiğini, Carvacrol' ün omurilikteki su içeriği, oksidatif stres, endotelial nitrik oksit sentezi (eNOS), nitrik oksit üretimi apoptozla ilişkili moleküller üzerinde önleyici etkilere sahip olduğunu Carvacrol' un oksidatif strese ve eNOS sinyal yolağına aracılık ederek spinal kord hasarını önlediğini göstermişlerdir (138).

Serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonu (LP), çeşitli patolojilerin gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir mekanizmadır. Serbest oksijen radikallerinin artışı hücre membranındaki lipid peroksidasyonuna ve protein, karbonhidrat ve nükleik asitleri de oksidasyona uğratarak oksidatif strese neden olur. Dokuların mekanik yıkımından sonra başlayan ikincil hasar, lipid peroksidasyonun başlıca nedenidir (139, 140). LP membran yapısında değişikliklere, membran fonksiyon kaybına neden olur. peroksitlenmiş lipidlerin parçalanmasından sonra çok çeşitli son ürünler salınır (6). MDA, spinal miyelin, glial ve nöronal sinir zarlarının lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ikincil üründür (141). MDA seviyesi, yaralı hücrelerdeki lipid peroksidasyonunun derecesinin bir göstergesidir. Mevcut çalışmalar, serbest radikal aktivasyonunun bir ürünü olan MDA seviyesinin yaralanmayı takiben bir saat sonra ve bir haftaya kadar yükseldiğini bu süreçte ölçümlerinin yapılmasının daha güvenilir olduğunu göstermiştir (142, 143). Serumda MDA düzeyinin ölçümü, serbest oksijen radikallerinin rol aldığı doku hasarının ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (144). Oksidatif stresin artması sonucu lipid peroksidasyonuna işaret eden MDA spinal kord yaralanmasına bağlı artış göstermekte ve bu artışın etkisini azaltmaya yönelik antioksidan özellik gösteren ajanlar kullanılmaktadır. Uygulanan bu antioksidan tedaviler ile oksidatif stres ve LP mekanizmaların etkisinin azaldığı gösterilmiştir (145).

Kavaklı ve arkadaşlarının sıçanlarda spinal kord yaralanmasında Curcumin'in antioksidan etkisini araştırdığı deneysel çalışmada; travmaya bağlı olarak serum MDA düzeyinin arttığını, Curcumin ile tedavi edilen grupta ise kontrol grubuna göre MDA düzeyinin azalmış olduğunu tespit etmişlerdir. Buna göre Curcumin'in etkin biçimde oksidatif hasara karşı spinal kord dokularını koruduğu belirtilmiştir (146).

Çalışmamızda spinal kord hasarı sonrasında MDA düzeyinin travma gruplarında mevcut çalışmalara uygun bir şekilde arttığını dolayısıyla lipid peroksidasyonu doku hasarını ve hücresel dejenerasyonu önemli ölçüde etkilerken hücre sinyalizasyonunu apoptik yönden etkilediği düşünülmüştür. MDA düzeyi travma+zahter ve travma+dağ nanesi gruplarında travma grubuna göre düşüş gösterse bile tedavi gruplarında ki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bunun verilen ekstraktların dozuyla ve süresi ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz.

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. TAS ve TOS analizi oksidan ve antioksidan düzeyin araştırılması için sıklıkla kullanılan parametrelerdir. Ekonomik bir yöntemle güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (147). TAS vücut sıvılarındaki ve plazmadaki toplam antioksidanların etkisini gösterirken TOS bütün oksidanların toplam etkisini gösterir. TAS seviyesi iyi korunan ve güçlü bir organizmanın oksidatif stres belirticidir (148).

Aras ve arkadaşlarının spinal kord hasarında bir antibiyotik olan Minocycline'nin doza bağımlı antioksidan aktivitesini gösterdikleri çalışmada yüksek dozda Minocycline verilen travma grubunda TAS ve TOS düzeylerinin düşük dozda verilen gruplara göre önemli derecede arttığını belirlemişlerdir (148).

Çalışmamızda travma gruplarında lipid peroksidasyonun ve oksidatif stresin artmasına bağlı olarak TAS TOS değerlerinde anlamlı fark histopatolojik incelemedeki dejenerasyonun hızı ile doğru orantılı olarak gerçekleşmiştir. TOS değeri için kontrol ve travma grupları arasında gözlenen istatistiksel farklılık travma uygulanan sıçanlarda TOS değerinin arttığını söylemeyi mümkün kılmaktadır. Travma+zahter ile travma+dağ nanesi gruplarında travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasada TAS değerinin arttığı görüldü. Bitki ekstraktlarının daha uzun vadede uygulanmasının anlamlı bir sonuç vereceğini düşünmekteyiz.

Histopatolojik incelemede travma grubunda nöronlarda belirgin dejenerasyonlar ve nöroglia hücrelerinin nucleuslarında pignotik değişiklikler gelişmesi apoptik sürecin hızlandığına işaret etmektedir.(Şekil 5.7) Travma grubunda kanalis centralis'teki epitel hücrelerinin bütünlüğünün bozulması substantia grisea da inflamasyonun artmasına ve BOS'un metabolizmasında değişime neden olacağı ön görülmüştür.

Travma+dağ nanesi grubunda nöron ve nöroglia hücrelerinde dejenaratif değişiklikler ve hücrel atrofi olduğu ancak kanalis centralis te rejenerasyon sonucu yapısal bütünlüğün devam ettiği görülmüştür (Şekil 5.9) .

VEGF; Vaskulogenezis ve anjiyogeneziste etkili olan endotel hücrelerinde yer alan regülasyonda görev alan önemli bir proteindir (149, 150). Cheng ve arkadaşlarının kompresif spinal kord yaralanmasında dekompresyon sonrası Notch-1 aktivasyonunun rolü ve görülen fizyopatolojik değişiklikleri inceledikleri çalışmada

dekompresyonun ardından Anjiyogenezisin belirteci olan VEGF ekspresyonunun substantia grisea ve substantia alba bölgesinde arttığını belirlemişlerdir (151).

Travma grubunda substantia grisea da yer alan kapiller damarlardaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu pozitif olarak tespit edildi. Travma+zahter ve travma +dağ nanesi gruplarında travma grubundan daha az görülmekle birlikte pozitif ekspresyonlar devam etmekteydi. VEGF ekspresyonunun değişime uğraması travma+zahter ve travma+ dağ nanesi gruplarında anjiyogenezisi belirgin olarak etkilemediği ancak endotel hücrelerinde düşük düzeyde yeniden yapılanmanın başlangıcı olabileceği düşünüldü.

GFAP; kan beyin bariyerinin bütünlüğünün korunmasında, glial membranların yapısında yer alan bağlantı kompleksinde önemli işlevleri bulunan genellikle glia hücrelerde eksprese olan bir proteindir. Bazı nöronların sinaptik bölgelerinde iletimin akıcılığında görev yapmaktadır (152). GFAP' ın astrositik süreçlere yapısal stabilite sağlayarak astrosit hareketliliğini ve şeklini modüle etmede önemli olduğu düşünülmektedir.

GFAP, omurilik yaralanmasına karşı aşırı duyarlıdır. Doğal bir disakkarit olan trehalozun anti-inflamatuar ve antioksidan etkileri ile spinal kord yaralanması üzerinde terapötik etkinliğinin araştırıldığı çalışmada trehaloz ile tedavi edilen grupta hasar sonrası inflamatuvar ve oksidatif stres üzerinde erken dönemde anlamlı bir düşüş gösterdiğini travmadan 1 gün sonra GFAP ekspresyonunu azalttığını belirlemişlerdir. Travma grubunda GFAP ekspresyonunun yaralanmadan sonra büyük ölçüde yükseldiğini, 3 günde bir zirveye ulaştığını ve spinal kord yaralanmasından 7 gün sonra yüksek seviyede kaldığını belirlemişlerdir (153).

Çalışmamızın travma grubunda dejeneratif etkiye bağlı olarak sinir uzantılarının ve glial hücrelerin yapısal bütünlüğünün bozulduğu yerde GFAP ekspresyonunun bozulduğu görüldü. Travma+zahter grubunda travma grubuna göre substantia alba sinir uzantılarında ve bazı nöronların apikal yüzeylerinde kanalis centraliste bazal membranda GFAP ekspresyonunun olduğu görüldü. Travam+dağ nanesi grubunda daha çok miyelinli sinir uzantılarında GFAP ekspresyonunun belirgin olduğu bununda GFAP ekspresyonunun reorganizasyonuna bağlı sinir uzantılarında ve glial

hücrelerde düzenli olduğu görüldü. GFAP yönünden Travma+dağ nanesi grubunda travma+ zahter grubuna göre daha etkili olduğu bununla birlikte dağ nanesinin glial hücrelerde ve sinir uzantılarının korunmasında zahtere göre daha etkili olduğu görülmüştür.

Kontrol grubuyla zahter ve dağ nanesi grupları GFAP ekspresyonu yönüyle karşılaştırıldığında glial hücrelerde ve nöronlarda GFAP ekspresyonunun olduğu dağ nanesi grubunda sinir uzantılarının bulunduğu alanda GFAP ekspresyonunun kontrol ve zahter gruplarına göre daha belirgin olduğu görülmüştür. Bununda GFAP ekspresyonu yönünden protein üretiminin ve yapılanma etkisinin bir işareti olduğu öngörülmüştür.

N-Catherin; hücre yüzey bağlantısında görev alan önemli bir adezyon molekülü olup daha çok nöronlarda hücre bağlantısının olduğu yerlerde yaygın görülen bir proteindir (154).

Travma grubunda özellikle substantia griseada yer alan multipolar ve bipolar nöronların membranlarında sinaptik bağlantıların değişime uğradığı alanda N-Catherin ekspresyonunun pozitif olduğu görüldü. Travma+dağ nanesi grubunda travma+zahter grubuna göre bağlantı kompleksindeki ekspresyonun daha belirgin olduğu görüldü.

S100 immuno aktivitesi sinir sisteminde özellikle sinir uzantıları ve sinaps bölgelerinde damar çevresindeki membranlarda belirgin olarak yer alan önemli bir proteindir (155). S100 omurilik tarafından üretilen kalsiyum bağlayıcı özelliğe sahiptir. Çoğunlukla astrositlerde görülür. Ayrıca periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri tarafından üretilir ve burada sitoskeletal yapıyı ve hücre proliferasyonunu düzenler. S100 yaralanma sonrası gelişme ve yenilenme aktivitesi sırasında nöral hücreler için nörotrofik aktiviteye sahiptir. S100 ayrıca proinflamatuvar faktörlerin ekspresyon seviyesini de uyarır ve apoptoz süreçlerini başlatır.

Sıçanlarda klip kompresyon ile deneysel omurilik yaralanması oluşturma modelinde sıkıştırma süresinin RhoA, P75 ve S100 ekspresyonu üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada 3 saniye ve 10 dakika süreler boyunca T9 vertebra laminasında bir anevrizma klipsi kullanılarak hasar oluşturuldu. Yaralanmadan 3 ve

14 gün sonra omurilik histopatolojisi karşılaştırıldı. Yaralanmanın patolojisi, ışık mikroskobu ve immünohistokimya kullanılarak incelendi. Kısa süreli kompresyon grubuna kıyasla uzun süreli kompresyon grubunda daha yüksek bir S100 ekspresyon seviyesi bulundu. Daha erken dekompresyonun daha yüksek S100 ekspresyon seviyelerine bağlı olarak ikincil yaralanmaların ilerlemesini önleyebileceğini gösteriyordu. Bu çalışma, S100 ekspresyonundaki değişiklikler yoluyla omuriliğin erken dekompresyonunun ikincil yaralanma olaylarını modüle edebileceğini göstermiştir (156, 157).

Çalışmamızda travma grubunda kanalis centralis'e yakın nöron ve glial hücrelerde S100 ekspresyonun belirgin olduğu görüldü. Travma+dağ nanesi grubunda hem substantia alba hem substantia griseadaki nöron ve aksonlarda damar çevresine yakın sinir uzantılarında ekspresyonun pozitif olduğu görüldü. Travma+dağ nanesi grubunda travma+zahter grubuna göre sinir uzantılarının S100 aktivitesinin daha güçlü ve sinaps organizasyonunun düzenlenmesi yönünde olumlu olduğu kaanatine varıldı. S100 aktivitesi yönünden dağ nanesinin travmada daha etkili olduğu görüldü.

7. SONUÇ

Spinal kord hasarına yönelik uygulanan antioksidan antiinflamatuvar nöroprotektif tedavilerin etkilerini inceleyen araştırmaların çoğu deneysel çalışmalara dayanmaktadır. Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma, travmatik omurilik yaralanması sonucu oluşan doku hasarı üzerine zahter ve dağ nanesinin koruyucu ve tedavi edici etkisini inceleyen ilk çalışmadır.

Çalışmamızın biyokimyasal inceleme sonucu; travma grubunda MDA, ve TOS değerlerinin belirgin olarak arttığını, buna karşın TAS değerinin azaldığını dolaysı ile spinal kord hasarının patofizyolojisine uygun olarak travmanın gerçekleştiğini göstermektedir.

Çalışmamızın histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemelerinde hasar sonrasında oluşan hücresel moleküler değişimlere bağlı olarak inflamatuvar belirteçlerin arttığı, glial hücre birikiminin bu bölgelerde yoğunlaşarak inflamasyon uyarıcısına bağlı gelişen nukleus hasarı ve yaygın apoptik değişikliklerin olduğu görülmüştür. Nöronal dejenerasyonun daha çok inflamasyon uyarıcılarıyla ve endotel hücrelerinde gelişen değişime bağlı olarak yapısal bütünlüğün bozulmaya başladığı sinirsel uzantıların sinaps bölgelerinde değişikliğe uğradığı ve bunun sonunda doku hasarının ilerlediği görülmüştür.

İnflamasyon ve oksidatif stres etkisine bağlı olarak oluşan bu indüksiyonu önlemede antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile kullandığımız zahter ve dağ nanesi ekstraktlarının omurilik hasarı üzerinde benzer ve olumlu etkileri olmasına rağmen bu etkinin kısmen olduğunu göstermiştir. Histopatolojik ve immunohistokimyasal bulgularımıza göre dağ nanesinin etkinliği zahtere kıyasla daha yüksek düzeyde bulunmuştur.

Zahter ve dağ nanesinin kısmen etkili olması, buna bağlı olarak antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin düşük olması, bitki ekstraktlarının verilmiş süresine, doz ve uygulama şekline bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Bu etkenlere bağlı etkilerinin anlaşılabilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

8. KAYNAKÇA

1. Wagner FC, Dohrmann GJ, Bucy PC. Histopathology of transitory traumatic paraplegia in the monkey. J Neurosurg 1981; 35: 272-276.
2. Gülmen V, Zileli M. Omurilik yaralanmasında farmakolojik tedavi. Zileli M, Özer F. Omurilik ve omurga cerrahisi, 2. baskı. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002: 833-839.
3. Oyinbo C. A. Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade. Acta Neurobiol Exp. 2011; 71(2), 281-99.
4. Von Leden R, Yauger Y J, Khayrullina G, Byrnes K. R. Central nervous system injury and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase: oxidative stress and therapeutic targets. Journal of neurotrauma, 2017; 34(4), 755-764.
5. Tepe B, Sokmen M, Sokmen A, Daferera D, Polissiou M. Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. Journal of Food Engineering, 2005; 69(3), 335-342.
6. Guzel A, Aksit H, Elmastas M, Erenler R. Bioassay-guided isolation and identification of antioxidant flavonoids from *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden and Schen Pharmacology Magazine. 2017; 16-320.
7. Gokturk RS, Sagdic O, Ozkan G, Unal O, Aksoy A, Albayrak S. et al. Essential oil compositions and bioactivities of *Thymus revolutus* and *Cyclotrichium organifolium*. J Essent Oil Bear Plant 2013; 16: 795-805.
8. Pizzale L, Bortolomeazzi R, Vichi S, Uberegger E, Conte LS. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. indercedens*) extracts related to their phenolic compound content. J Sci Food Agric 2002; 82:1645–1651.
9. Baser K.H.C. Her Derde Deva Bir Bitki: Kekik. Bilim ve Teknik. 2001; 74, 4.

10. Kosar M, Dorman H.J.D, Bachmayer O, Baser K.H.C, Hiltunen R. An improved on-line HPLC-DPPH method for the screening of free radical scavenging compounds in water extracts of Lamiaceae plants. Chem. Nat. Compd 200; 39, 161-166.
11. Kilic T. Analysis of Essential Oil Composition of *Thymbraspicata* L var. *spicata*: Antifungal Antibacterial and Antimycobacterial Activities.Z. Naturforsch. 2006; 61. 324-328.
12. Zeytun H, Basuguy E, İbiloğlu İ, Arslan S, Kaplan İ, Okur MH. Carvacrol'un Ratlarda Böbrek İskemi Reperüzyon Hasarı Üzerine Koruyucu Etkileri Dicle Tıp Dergisi 2020; 47 (3) : 696-703
13. Priestley CM, Williamson EM, Wafford KA, Sattelle DB. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA(A) receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. Br J Pharmacol. 2003; 140:1363-1372.
14. Yilmaz O, Akkaya H. Radical scavenging activity of *Thymbra spicata* and *Quercus ithaburensis* in a fenton reagent environment and their protective effects on unsaturated fatty acids. Ekoloji. 2012; 21(85), 34-40.
15. Ulukanlı Z, Bozok F, Cenet M, Ince H, Demirci S, C, Sezer, G. Secondary metabolites and bioactivities of *Thymbra spicata* var. *spicata* in Amanos mountains. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2016; 19(7), 1754-1761.
16. Gedikoğlu A, Sökmen M, Çivit A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. Food science & nutrition, 2019; 7(5), 1704-1714.
17. Markovic T, Chatzopoulou P, Siljegovic J, Nikolic M, Glamoclija J, Ciric A, Sokovic M. Chemical analysis and antimicrobial activities of the essential oils of *Satureja thymbra* L. and *Thymbra spicata* L. and their main components. Archives of Biological Sciences. 2011; 63(2), 457-464.

18. Direk K.F. Tuncer M.C. Deveci E. Yokuş B. Nas K, Keşim D.A. Deneysel Travmatik Omurilik Hasarında Thymbra Spicata L. Var Spicata ve Cyclotrichium Origanifolium'un Böbrek Üzerine Koruyucu Etkisinin Araştırılması. Dicle Tıp Dergisi. 2021; 48(2), 299-308.
19. Dikilidal M, Ozdemir H, Oto G, Yilmaz A. Effects of thymus vulgaris L. and thymbra spicata L. on diabetes mellitus associated cognitive impairment and neuropathy: Thymus Vulgaris and Cognitive Function Improvements Medical Science and Discovery. 2014; 1:16-21.
20. Uzun K: Etil alkol ve karbon tetraklorüre maruz kalan sıçanlara cyclotrichium niveum ekstraktının bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi. Doktora Tezi. Adıyaman üniversitesi, 2014.
21. Xarchas K, Bourandas J. Injuries and disease of the Spine in ancient times. Spine 2003; 28(13):1481-1484.
22. Breasted JH. The Edwin Smith Surgical Papyrus: Published in facsimile and hieroglyphic transliteration with translation and commentary in two volumes. University of Chicago Press, Chicago, Illinois 1930, pp 324–327. (Edwin Smith Papirüsü).
23. Freeman LW, Wright TW. Experimental observations of concussion and contusion of the spinal cord. Annals of Surgery 1953: 13.
24. Elsberg CA. The Edwin Smith Surgical Papyrus and diagnostic treatment of injuries to the skull and spine . Ann Med. Hist. 1931; 3:271-279.
25. Hughes J.T. The Edwin Smith Surgical Papyrus: an analysis of the first case reports of spinal cord injuries. Paraplegia, 1988. 26(2): p. 71-82.
26. Marketos SG, Skiadas PK. Hippocrates: the father of spine surgery. Spine 1999; 24:1381- 1387.
27. Ohry A, Ohry KK. Spinal cord injuries in the 19th century.Churchill Livingstone,Edinburg 1989; 9-35.

28. Silver JR. History of the treatment of spinal injuries. *Postgrad Med J* 2005;81: 108–114.
29. Lifshutz J, Colohan A. A brief history of therapy for traumatic spinal cord injury. *Neurosurg Focus*. 2004; 16: E5.
30. Hanigan WC, Sloffer C. Nelson's wound: treatment of spinal cord injury in 19th and early in 20th century military conflicts. *Neurosurg Focus* 2004;16: E4.
31. Sanan A, Rengachary SS. The history of spinal biomechanics. *Neurosurgery* 1996;39: 657–68.
32. Khan M, Griebel R, Rozdilsky B et al. Hemorrhagic changes in experimental spinal cord injury models. *Can J Neurol Sci* 1985; 12: 259-262.
33. Black P, Markowitz RS, Cooper V: Models of spinal cord injury: Part 1. Static load technique. *Neurosurgery* 1986; 19: 752-762.
34. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosur* 1991; 75: 15-26.
35. Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W. Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine* 2002; 27(14):1504-1510.
36. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 44(5):1027-1040.
37. Koozekanani SH, Vise WM, Hashemi RM et al: Possible mechanisms for observed pathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen. *J Neurosurg*. 1976; 44: 429-434.
38. Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report *JAMA* 1911; 57: 877-880.
39. Collins WF. A review and update of experiment and clinical studies of spinal cord injury. *Paraplegia* 1983; 21: 204-219.

40. Arıncı K, Elhan A. Anatomi 2. Cilt Güneş Kitapevi. 2005; 213-264.
41. Arifoğlu Y. Her Yönüyle Anatomi. 1. Baskı İstanbul Tıp Kitapevleri. İstanbul. 2017.
42. Aydoğan S. A, Fahir Özer : Omuriliğin vasküler anatomisi ve kan akımı
Omurilik ve Omurga Cerrahisi , Ed. M.Zileli, A. Fahir Özer, 2. baskı, Meta Basım,Bornova, İzmir. 2002; s: 87-90.
43. WHO: Spinal cord injury. WHO, Fact sheet N°384. 2013.
44. Hachem L. D, Ahuja C. S, Fehlings M. G. Assessment and management of acute spinal cord injury: From point of injury to rehabilitation. J Spinal Cord Med, 2017; 40(6), 665-675.
45. Wilson J. R, Cadotte D. W, Fehling M. G. Clinical predictors of neurological outcome functional status and survival after traumatic spinal cord injury: a systematic review. J Neurosurg Spine, 2012; 11-26.
46. Middleton J. W, Dayton A, Walsh J, Rutkowski S. B. Leong G, Duong S. Life expectancy after spinal cord injury: a 50-year study. Spinal Cord. 2012; 50 (11), 803-11.
47. Karamehmetoğlu ŞŞ, Nas K, Karacan I, Sarac AJ, Koyuncu H, Ataoğlu S, Erdoğan F . Traumatic spinal cord injuries in southeast of Turkey: An epidemiological study. Spinal Cord 1997; 35: 531 – 533.
48. Dincer F, Oflazer A, Beyazova M, Çeliker R , O Basgoze MD, ,K Altıoklar. Traumatic spinal cord injuries in Turkey. Paraplegia 1992; 30: 641 - 646.
49. Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G,Kirnap G, Dursun H, Kalkan A, Yalınkılıç A, Ünal HI, Nas K, Orkun S, Tekeoğlu İ. Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. Spinal Cord. 2000; 38(11):697–701.
50. Tator CH. Experimental and clinical studies of the pathophysiology and management of acute spinal cord injury. J Spinal Cord Med 1996; 19: 206-214.

51. Yeziarski RP. Spinal cord injury pain: spinal and supraspinal mechanisms. *J Rehabil Res Dev* 2009; 46: 95–107.
52. Ünlü YA, Kaya E, Uzun H, Barut Ş, Belce A, Öz B, et al. The neuroprotective effects of Ebselen in the experimental spinal cord injury. *Turkish Neurosurgery* 2002;12: 9–16.
53. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. *Spine J* 2004; 4: 451–464.
54. Sekhon L, Fehlings M. Epidemiology, Demographics, and Pathophysiology of Acute Spinal Cord Injury. *Spine*, 2001; 26(24S), S2-S12.
55. Amar AP, Lewy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 45:1027-1040.
56. Eaton MJ. Cell and molecular approaches to the attenuation of pain after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2006;23:549-559.
57. Anthes DL, Theriault E, Tator CH. Ultrastructural evidence for arteriolar vasospasm after spinal cord trauma. *Neurosurgery*.1996; 39: 804-814.
58. Hall ED. The neuroprotective pharmacology of methylprednisolone *J Neurosurg.* 1992; 76; 13-22.
59. AR: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. *JAMA*, 1911; 57, 878-880.
60. Alizadeh, A. (2018). Elucidating the role of neuregulin-1 in glial and immune response following traumatic spinal cord injury.
61. Michael A. R. V. Fehlings G. Maxwell B, Rossignol S, John F. Ditunno J. Anthony S. Burns *Essentials of Spinal Cord Injury Basic Research to Clinical Practice*. Thieme Medical Publishers. Inc. 2013.
62. Tran A. P, Warren P. Silver M. J. The Biology of Regeneration Failure and Success After Spinal Cord Injury. *Physiol Rev.* 2018; 98(2), 881-917).

63. Alizadeh A, S. Dyck M. Karimi S. Abdolrezaee: Myelin damage and repair in pathologic CNS: challenges and prospects. *Front Mol Neurosci.* 2015; 8, 35.
64. De Girolami U, Frosch MP, Richardson EP. Regional Neuropathology: Diseases of the spinal cord and vertebral column. Graham DI, Lantos PL ed. *Greenfield's Neuropathology & Edition London* 1997; 1095-1121.
65. Zileli M. Omurilik yaralanmasında epidemiyoloji ve prognoz. In: Zileli M, Ozer AF. eds. *Omurilik ve omurga cerrahisi.* 2002: 885-892.
66. Bullock R, Fujisawa H. The role of glutamate antagonist for the treatment of CNS injury. *J Neurotrauma* 1992; 9: 443-462.
67. Fehlings MG, Tator CH, Linden RD. The relationships among the severity of spinal cord injury, motor and somatosensory evoked potentials and spinal cord blood flow. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989; 74: 241-259.
68. Amar AP, Lewy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 45:1027-1040.
69. Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 1991;37:291-302.
70. Sandler AN, Tator CH. Review of the effect of spinal cord trauma on the vessels and blood flow in the spinal cord. *J Neurosurg* 1976; 45:638-646.
71. Güzel A, Tatlı M, Ökten Aİ, Çaylı S. Omurilik yaralanmasının patoloji ve fizyopatolojisi. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2006;28: 73 – 78.
72. Güdücü N. Deneysel CO Zehirlenmesinde Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Beyin Dokusunda Antioksidan enzimlere ve Malondialdehid düzeylerine etkileri, İstanbul, 2006.
73. Adibhatla, R. M. Hatcher, J. F. (2010). Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*, 2010; 12(1), 125-169.

74. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. *Spine J* 2004;4: 451–464.
75. Demopoulos HB, Flam ES, Seligman ML, Pietronigro DD, Tamasula J, DeCrescito V. Further studies on free radical pathology in the major central nervous system disorders: Effect of very high doses of methylprednisolone on the function outcome, morphology and chemistry of the experimental spinal cord impact injury. *Can J Physiol Pharmacol* 1981;60: 1415–1424
76. Rowland JW, Hawryluk GW, Kwon B, Fehlings MG. Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon. *Neurosurg Focus* 2008;25: 32.
77. Sun Y, Liu D, Wang Q, et al. Hyperbaric oxygen treatment of spinal cord injury in rat model. *BMC Neurol.* 2017; 17: 128.
78. Donnelly D. J, Popovich P. G. Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration and functional recovery after spinal cord injury. *Exp Neurol*, 2008; 209(2):378-88.
79. Soy O, Aslan O, Uzun H, Barut S, Iğdem AA, Belce A, Colak A. Timelevel relationship for nitric oxide and the protective effects of aminoguanidine in experimental spinal cord injury. *Acta Neurochir.* 2004;146(12):1329-35.
80. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery.* 1999;44:1027-1039.
81. 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(1):119- 26.
82. Azbill RD, Mu X, Bruce-Keller AJ, Mattson MP, Springer JE. Impaired mitochondrial function, oxidative stress and altered antioxidant enzyme activities following traumatic spinal cord injury. *Brain Res.* 1997;15;765(2):283-90.

83. Hao HH, Guo ZJ, Bai L, Zhang RP, Shuang WB, Jia YJ, Wang J, Li XY, Liu Q. Valproic acid reduces autophagy and promotes functional recovery after spinal cord injury in rats. *Neurosci Bull.* 2013. 29(4): 484-92.
84. Agrawal SK, Nashmi R, Fehlings MG: Role of L-and N-type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience*, 2000; 99: 179-188.
85. Jungersten L, Edlund A, Petersson AS, Wennmalm A. Plasma nitrate as an index of nitric oxide formation in man: analyses of kinetics and confounding factors. *Clin Physiol* 1996; 16: 369-79.
86. Ellis, RE, Yuan, J and Horvitz, HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu. Rev. Cell Biol.* 1991; 7: 663-698.
87. Springer JE, Azbill RD, Knapp PE. Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in spinal cord injury. *Nature med* 1999; 5: 943-946.
88. Emery E, Aldana P, Bunge MB. Apoptosis after human spinal cord injury. *J Neurosurgery* 1999; 89: 911-920.
89. Williams GT. Programmed cell death. Apoptosis and oncogenesis. *Cell* 1991; 65: 1097 - 1098.
90. Abrams JM, White K, Fessler LI, Steller H. Programmed cell death during *Drosophila* embryogenesis. *Development* 1993; 117: 29 - 43.
91. Willie AH, Kerr JFR, Currie AR. Cell death. The significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980; 68: 251 - 306.
92. Allsopp TE, Wyatt S, Paterson HF, Davies AM. The protooncogene Bcl-2 can selectively rescue neurotrophic factor-dependent neurons from apoptosis. *Cell* 1993; 73: 295 – 307.
93. Bjorkerud S, Bjorkerud B. Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesions, especially in inflammatory cells (macrophages and T cells), and may

- contribute to the accumulation of gruel and plaque instability. *Am J Pathol* 1996; 149: 367 - 380.
94. Baines CP. Role of the mitochondrion in programmed necrosis. *Front Physiol.* 2010; 29; 1:156.
 95. Pisoschi A, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2015;97:55-74.
 96. Singh E, Devasahayam G. Neurodegeneration by oxidative stress: a review on prospective use of small molecules for neuroprotection. *Mol Biol Rep* 2020;47:3133-3140.
 97. Kuyumcu F, Aycan A. Evaluation of oxidative stress levels and antioxidant enzyme activities in burst fractures. *Med Sci Monit* 2018;24:225-234.
 98. Heffner JE, Repine JE. Pulmonary strategies of antioxidant defense. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:531- 554.
 99. Villa J. V, Villamar D. M. P. Zapien, J. A. T, Espinoza, L. B. García, J. H, García, R. S. Current developments in antioxidant therapies for spinal cord injury. *Spinal Cord Injury Therapy*, 2019; 1-32.
 100. Florou-Paneri P, Palatos G, Govaris A, Botsoglou D, Giannenas I ve Ambrosiadis I. Oregano Herb Versus Oregano Essential Oil as Feed Supplements to Increase The Oxidative Stability of Turkey Meat. *International Journal Of Poultry Science*, 2005; 4 (11): 866-871.
 101. Dogan S, Turan P, Arslan M.O, Alkan M. Partial characterization of peroxidase from the leaves of thymbra plant (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*) *Eur Food Res Technol.* 2007; 225: 865–871.
 102. Sagdıç Ö, Özcan M. Antibacterial activity of Turkish spice "hydrosols. *Food Control.*2004; 14:141–143.
 103. Kosar, M, Dorman H.J.D, Bachmayer O, Baser K.H.C., Hiltunen R. An improved on-line HPLC-DPPH method for the screening of free radical

- scavenging compounds in water extracts of Lamiaceae plants. Chem. Nat. Compd. 2003; 39, 161-166.
104. Kilic, T. (Analysis of Essential Oil Composition of *Thymbraspicata* L var. *spicata*:Antifungal, Antibacterial and Antimycobacterial Activities.Z. Naturforsch. 2006; 61c, 324-328.
 105. Bayan Y, Genç N, Kusek M, et al. Determination of chemical compositions antifungal antibacterial and antioxidant activity of *Thymbra spicata* L. from Turkey. Fresenius Environmental Bulletin. 2017; 26: 7595-7599.
 106. Kaya A, Başer KHC, Satıl F, Tümen G. Morphological and Anatomical Studies on *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. (Labiatae) Turk J Bot. 24 2000, 273-278.
 107. Çetinus, ğ.A., Göze, Ğ., Saraç, B., Vural, N., (2007). Scavenging effect and antispasmodic activity of the essential oil of *Cyclotrichium niveum*, Fitoterapia, 78:129-133.
 108. Gerber, M., Boutron-Ruault, M. C., Hercberg, S., Riboli, E., Scalbert, A., & Siess, M. H. Food and cancer: State of the art about the protective effect of fruits and vegetables. Bulletin du Cancer. 2002 89, 293–312.
 109. Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griel, A. E., & Etherton, T. D. (). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. American Journal of Medicine, 2002; 113: 71S–88S.
 110. Di Matteo, V., Esposito, E. Biochemical and therapeutic effects of antioxidants in the treatment of Alzheimers disease, Parkinsons disease, and amyotrophic lateral sclerosis. Current Drug Target CNS Neurological Disorders, 2003; 2, 95–107.
 111. Ames, S. N., Shigrenaga, M. K., & Hagen, T. M. (). Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1993 90, 7915–7922.

112. Wenli, Y., Yaping, Z., & Bo, S. The radical scavenging activities of Radix puerariae isoflavonoids: A chemiluminescence study. Food Chemistry. 2004; 86, 525–529.
113. Oumzil, H., Ghouлами, S., Rhajaoui, M., Hidrissi, A., Fkih-Tetouani, S., & Benjouad, A. Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Mentha suaveolens*. Phytotherapy Research, 2002; 16, 727–731.
114. Gokturk RS, Sagdic O, Ozkan G, Unal O, Aksoy A, Albayrak S, et al. Essential oil compositions and bioactivities of *Thymus revolutus* and *Cyclotrichium origanifolium*. J Essent Oil Bear Plant 2013;16:795-805.
115. Erenler R, Sen O, Aksit H, Demirtas I, Yaglioglu AS, Elmastas M, et al. Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities. J Sci Food Agric 2016; 96: 822-36.
116. Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 2000; 55: 481-504.
117. Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry. 2000; 55: 481-504.
118. Tarlov IM: Spinal cord compression. Mechanism of paralysis and treatment. Springfield III, Charles C Thomas, 1957.
119. Yıldırım MU, Sarihan EO, Kul H, et al. Diurnal and nocturnal variability of essential oil content and components of *Lavandula angustifolia* Mill. (Lavender). Mustafa Kemal University Journal of Agricultural Sciences. 2019; 24: 268-278.
120. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 1979; 95: 351- 358.
121. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clinical Biochemistry, 2004; 277– 285.

122. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005; 38(12):1103-11.
123. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ. Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin Neuropharmacol.* 2001;24(5):265-279.
124. NINDS. Spinal cord injury: Hope through research (). NIH Publication. 2013; 13-160.
125. Byrnes K. R, Fricke S. T. Faden A. I. Neuropathological differences between rats and mice after spinal cord injury. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 2010; 32, 836-46.
126. James N. D. Bartus K., Grist, J., Bennet, D. L. H., McMahon, S. B. Bradbury E. J. Conduction failure following spinal cord injury: functional and anatomical changes from acute to chronic stages. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 2011; 31, 18543-55.
127. Carlson G.D, Gorden C. Current developments in spinal cord injury research. *The Spine Journal* 2002; 116–128.
128. Schwab ME, Bartholdi D. Degredation and regeneration of axons in the lesioned spinal cord .*Physiol rev* 1996; 76:319-70.
129. Yusuf SŞ, Ömer B, Sevil AV. Comparison of ATP-MgCl₂ and Methylprednisolone in Experimentally Induced Spinal Cord Trauma. *L Clinical Med.* 2012; 3(4): 442-7.
130. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. *Spine J* 2004; 4: 451–464.
131. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, Dumont AS. Acute spinal cord injury, part 2: contemporary pharmacotherapy. *Clin Neuropharmacol* 2001;24: 265–279.

132. Hurlbert, R. J. (2000). Methylprednisolone for acute spinal cord injury: an inappropriate standard of care. *Journal of Neurosurgery: spine*, 93(1), 1-7.
133. Lou, J. Lenke, L. G. Ludwig, F. J. O'brien, M. F. Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal cord*. 1998; 36(10), 683-690.
134. Hulsebosch, C. E. Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury. . *Advances in physiology education*, 2002; 26(4), 238-255.
135. Zhang Q, Yang H, An J, et al. Therapeutic effects of traditional Chinese medicine on spinal cord injury: A promising supplementary treatment in future. *Hindawi Publishing Corporation Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016; 18.
136. Lee Y. S., Cho D. C., Kim C. H., Han I., Gil E. Y. Kim K. T., "Effect of curcumin on the inflammatory reaction and functional recovery after spinal cord injury in a hyperglycemic rat model," *The Spine Journal*, 2019; 19: 12. 2025–2039.
137. Şanlı AM, Turkoglu E, Serbes G, et al. Effect of curcumin on lipid peroxidation, early ultrastructural findings and neurological recovery after experimental spinal cord contusion injury in rats. *Turkish Neurosurgery*. 2012;22(2):189-195.
138. Jiang ZS, Pu ZC and Hao ZH: Carvacrol protects against spinal cord injury in rats via suppressing oxidative stress and the endothelial nitric oxide synthase pathway. *Mol Med Rep*. 2015; 12:5349–5354.
139. Golding JD, Rigley MacDonald ST, Juurlink BH, Rosser BW. The effect of glutamine on locomotor performance and skeletal muscle myosins following spinal cord injury in rats. *J Appl Physiol* 2006; 101: 1045-52.
140. Michael-Titus AT. Omega-3 fatty acids and neurological injury. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2007; 77: 295-300
141. Rahman A, Ustundag B, Burma Ozercan IH, Erol FS. Neuroprotective effect of regional carnitine on spinal cord ischemia-reperfusion injury. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 20: 65-70.

142. Christie S D. B. Comeau, T. Myers, D. Sadi, M. Purdy and I. Mendez: Duration of lipid peroxidation after acute spinal cord injury in rats and the effect of methylprednisolone. *Neurosurg Focus*, 2008; 25(5), E5.
143. Barut S, Canbolat A. Bilge, T. Aydin, Y., B. Cokneseli, U. Kaya: Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury: time-level relationship. *Neurosurg Rev*, 1993; 16(1), 53-9.
144. Draper H, McGirr LG, Hadley M. The metabolism of malondialdehyde. *Lipids* 1986; 21:305-307.
145. Pisoschi A, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015; 97:55-74.
146. Sahin Kavakli H, Koca C, Alici Ö. Antioxidant effects of curcumin in spinal cord injury in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2011; 17:14–8.
147. Birer S. Arda H. Kilic D. Baskol G. Systemic oxidative stress in non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Eye*. 2019; 33, 1140–1144.
148. Gariballa SE, Hutchin TP, Sinclair AJ. Antioxidant capacity after acute ischaemic stroke. *QJM* 2002;95:685–90.
149. Aras M, Altas M, Motor S. Dokuyucu R, Yilmaz A, Ozgiray E, Seraslan Y, Yilmaz N. Protective effects of minocycline on experimental spinal cord injury in rats. *Injury*. 2015; 46:1471–1474.
150. Li H.-Q., Cheng G.-S, X., Xu, J.-H., Li, F.-B. Role of hypoxia-induced VEGF in blood-spinal cord barrier disruption in chronic spinal cord injury. *Chin. J. Traumatol.* 2015; 18, 293–295.
151. Antony M. Carmen M., Homer S. An Integrative Model For Vascular Endothelial Growth Factor A as A Tumor Biomarker. *The Royal society of Chemistry* 2010; 2; 397-407.
152. Cheng X, Yu Z, Xu J, Quan D, Long H. Pathophysiological Changes and the Role of Notch-1 Activation After Decompression in a Compressive Spinal Cord Injury Rat Model. *Front Neurosci* 2021; 15(46).

153. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). *Neurochem Res.* 2000; 25:1439–1451.
154. Robati AM, Akbari M, Khaksari M, Mirzaee M. Trehalose attenuates spinal cord injury through the regulation of oxidative stress, inflammation and GFAP expression in rats. *J Spinal Cord Med.* 2019; 42:387–394.
155. Tanaka H. et al. Molecular modification of N-cadherin in response to synaptic activity. *Neuron.* 2000; 25: 93–107.
156. Li, X. Xiao, Z. Han, J., Chen, L. Xiao, H., Ma, F. Promotion of neuronal differentiation of neural progenitor cells by using EGFR antibody functionalized collagen scaffolds for spinal cord injury repair. *Biomaterials.* 2013; 34(21): 5107-5116.
157. Pourkhodadad, S. Hasannejad, Z. Firouzi, M. Abdollah Zadegan, S. R. Vaccaro, A. Rahimi-Movaghar V.). The Impact of Compression Duration on the RhoA, P75, S100 Expression in Spinal Cord Injury in Rat. *Archives of Neuroscience* 2021; 8(1).

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Figen	Soyadı	KOÇ DİREK
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu	T.C	Tel	
E-posta			

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	Dicle Üniversitesi	2021
Tezli Yüksek Lisans	Harran Üniversitesi	2011
Lisans	Dumlupınar Üniversitesi	2004
Lise	Davut Zeki Akpınar Lisesi	1999

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Fizyoterapist	Uzmanlar Özel Eğitim ve Reh. Merkezi	2018-Halen
Fizyoterapist	Fizyopolitan Tıp Merkezi	2015-2018
Fizyoterapist	Fizyometropolitan Fizik Tedavi Dal Merkezi	2007-2015
Fizyoterapist	Arkadaş Özel Eğitim ve Reh. Merkezi	2004-2007

--

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
61.25								
			Sayısal		Eşit Ağırlık		Sözel	
ALES Puanı								



10.EKLER

10.1. Yayınlanan makale

Dicle Tıp Dergisi / Dicle Med J (2021) 48 (2) : 299-308



DİCLE ÜNİVERSİTESİ
1973
TIP FAKÜLTESİ

www.diclemedj.org



Özgün Araştırma / Original Article

DeneySEL Travmatik Omurilik Hasarında Thymbra Spicata L. Var Spicata ve Cyclotrichium Origanifolium' un Böbrek Üzerine Koruyucu Etkisinin Araştırılması

Figen Koç Direk ¹, **M. Cudi Tuncer** ², **Engin Deveci** ³, **Beran Yokuş** ⁴, **Cemal Nas** ⁵, **Dilek Aygün Keşim** ⁵

¹ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye
² Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye
³ Dicle Üniversitesi DÜSAM Müdürlüğü, Diyarbakır, Türkiye
⁴ Gazi Yaşargil Eğitim Araştırma Hastanesi, Diyarbakır, Türkiye
⁵ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Geliş: 30.03.2021; Revizyon: 17.05.2021; Kabul Tarihi: 18.05.2021

Öz

Amaç: Bu çalışmada Thymbra spicata L. var. spicata (zahter) ve Cyclotrichium origanifolium' un (dağ nanesi) spinal kord travmasından sonra oluşan böbrek hasarı üzerine potansiyel tedavi edici ve koruyucu etkisi araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 36 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Her bir grupta 6 adet olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. 1.Grup; kontrol, 2.Grup; zahter, 3.Grup; dağ nanesi, 4.Grup; travma, 5.Grup; travma + zahter, 6.Grup; travma+dağ nanesi olacak şekilde oluşturuldu. Travma gruplarına spinal kord üzerine ağırlık düşürme metodu (Allen) uygulanarak travma oluşturuldu. Bir haftanın sonunda bütün sıçanlar Ketamin anestezisi altında kardiyak ponksiyonla kan örnekleri alındıktan sonra feda edilerek böbrek dokusu alındı. Dokuda histopatolojik değişiklikler incelendi. Serumda MDA, kreatinin, BUN (üre), Sodyum (Na) ve Potasyum (K) değerleri ölçüldü.

Bulgular: Böbrek dokusunda histopatolojik inceleme sonucu, travma grubunda glomerüler yapıların atrofiye uğradığı, tübüllerde dejenerasyon olup yapısının bozulduğu, damarlarda konjesyon olduğu ve mononükleer hücre infiltrasyonunun arttığı görüldü. Travma + zahter ile travma + dağ nanesi gruplarında ise travma grubuna göre glomerüler yapılarda düzelme olduğu, yer yer mononükleer hücre infiltrasyonunun düzeldiği görüldü. Serum MDA, BUN (üre), Na ve K değerlerinin travma grubunda diğer gruplara göre arttığı (p < 0.05), travma+zahter ve travma+dağ nanesi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azaldığı görüldü (p > 0.05). Serum kreatinin düzeyinin ise travma+zahter grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı görüldü (p < 0.05).

Sonuç: Thymbra spicata L. var. spicata (zahter) ve Cyclotrichium origanifolium' un (dağ nanesi) omurilik yaralanmasına bağlı böbrek hasarına karşı kısmen etkili olduğu zahterin dağ nanesine göre etkinliğinin daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Spinal kord hasarı, Böbrek, Antioksidan, Zahter, Dağ nanesi

DOI: 10.5798/dicletip.944388

Yazışma Adresi / Correspondence: Figen Koç Direk, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye e-mail: figen11kd@gmail.com

10.2. Etik Kurul İzin Belgesi

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ PROF.DR. SABAHATTİN PAYZIN SAĞLIK BİLİMLERİ ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (DÜHADEK)								
ETİK KURULU KARARI								
TOPLANTI TARİHİ	30/05/2019	KARAR NO	1	TOPLANTI SAYISI	4			
KARAR Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi /Anatomi A.D. Prof. Dr. Cudi TUNCER'in yürütücüsü olduğu, Anatomi Doktora Öğr.Figen KÖÇ DİREK, Prof. Dr. Engin DEVECİ, Doktor Öğretim Üyesi Hüseyin ÖZVEREN'in yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Sıçanlarda, travmatik omurilik hasarı üzerine <i>Thymra spicata</i> <i>L.vat spicata</i> (zahteri) ve <i>Cypelotrichium Origaniifolium</i>'un (Duğ. nanesi), tedavi etkisinin deneysel olarak araştırılması" başlıklı ve 2019/08 protokol numaralı çalışma,								
Deneysel Hayvanın	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı				
	Sıçan (Wistar-Albino)	Erkek	7*6=42	8-10 Haftalık, 250-300 gr				
Etik kurulumuzca görüşülmüş olup, gerekli düzeltmeler yapılmış olduğu görüldükçe araştırmanın oy birliği ile desteklenmesine karar verilmiştir.								
KATILIMCILARIN								
ÜNVANI	ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA					
Prof. Dr.	Beran YOKUŞ	(BAŞKAN) RAPORTÖR						
Doç. Dr.	Selçuk TUNIK	(ÜYE)						
Doç. Dr.	Hasan AKKOC	(ÜYE)						
Doç. Dr.	Ayşe MEŞE	(ÜYE)						
Doç. Dr.	Ramazan DEMİREL	(ÜYE)						
Doç. Dr.	Mehmet Erdem AKBALIK	(ÜYE)						
Doç. Dr.	Mehmet Hüseyin ALKAN	(ÜYE)						
Dr. Öğr. Üyesi	Feray ALTAN	(ÜYE)						
Dr. Öğr. Üyesi	Ulaş ALABALIK	(ÜYE)						
Dr. Öğr. Üyesi	Ersin UYSAL	(ÜYE)						
Dr. Öğr. Üyesi	Erif VARHAN ORAL	(ÜYE)						
Dr. Öğr. Üyesi	Akın KOÇHAN	(ÜYE)						
Avukat	Abdullah YAVUZ	(ÜYE)						
Öğretmen	M. Yavuz KAHRAMAN	(ÜYE)						
KYK-FRM-387/00 Bekçisi: DÜBTAM binası, Zemin Kat. DÜSAM laboratuvarları (İlahiyat Fak. Karşısı) 21280 Sür /DİYARBAKIR E-posta: dusam@dicle.edu.tr Sekreteryası: 0 412 248 8431 (3956) Vet.Hekim: 0 412 2489001-36 hat (4423)								

11.ORJİNALLİK RAPORU

07.06.2021

Turnitin

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 07-Haz-2021 14:32 +03
NUMARA: 1602100383
Kelime Sayısı: 11503
Gönderildi: 1

Doktora Tezi Figen Koç Direk
tarafından

Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik
%15	İnternet Sources: %13 Yayınlar: %3 Öğrenci Ödevleri: %3

2% match (04-Haz-2021 tarihli internet)

<https://doaj.org/article/7e27540839f84c469a9c9c9109e1900d>

2% match (23-Oca-2020 tarihli internet)

<http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/21769/Basel%20Thesis.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

1% match (23-Mar-2016 tarihli internet)

<http://acikerisim.deu.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/12345/13191/242432.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

1% match (26-Kas-2018 tarihli internet)

<http://docplayer.biz.tr/2637204-Genel-bilgiler-tarihce.html>

1% match (14-Haz-2015 tarihli internet)

<http://anatomi.uludag.edu.tr/mss2.htm>

< 1% match (17-Nis-2015 tarihli internet)

http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/bevin_sinir_cerrahi/dr_miktat_kaya.pdf

< 1% match (02-Eyl-2015 tarihli internet)

http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/bevin_sinir_cerrahi/dr_bulent_ozdemir.pdf

< 1% match (07-Ara-2015 tarihli internet)

http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/bevin_sinir_cerrahi/dr_gokhan_vilmaz.pdf

< 1% match (04-Haz-2015 tarihli internet)

http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/cocuk_sagligi/dr_burcu_pisgin_volkan.pdf

< 1% match (23-Mar-2016 tarihli internet)

<http://acikerisim.deu.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/12345/13259/267017.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

< 1% match (24-Ara-2015 tarihli internet)

<http://docplayer.biz.tr/8436790-Akut-torakal-medulla-spinalis-lezyonunda-hiperbarik-oksjijenin-sinir-ivilesmesi-uzerine-etkisi.html>

< 1% match (11-Ara-2017 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Harran Üniversitesi on 2017-12-11](#)

< 1% match (19-Eyl-2018 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Karadeniz Teknik University on 2018-09-19](#)

< 1% match (22-Haz-2015 tarihli internet)

<http://eskidergi.cumhuriyet.edu.tr/makale/1355.pdf>

< 1% match (yayınlar)

[Iman Seleir, Ola Ahmed Bakry, Rehab Munir Samaka, Marwa Samy, "Immunohistochemical Evaluation of Leptin Role in Skin Tags", Ultrastructural Pathology, 2015](#)

https://www.turnitin.com/newreport_printview.asp?eq=0&eb=1&esm=0&oid=1602100383&sid=0&n=0&m=2&svr=23&r=74.36100747121618&lan... 1/37