



**T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA DENEYSEL OMURİLİK HASARINDA  
TOCİLİZUMABIN NÖRAL DOKUDA İYİLEŞME  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ  
MUAMMER YAKUPOĞLU**

**DÜZCE-2023**





**T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA DENEYSEL OMURİLİK HASARINDA  
TOCİLİZUMABIN NÖRAL DOKUDA İYİLEŞME  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**MUAMMER YAKUPOĞLU  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DR.ÖĞR.ÜY. GÜVEN KILIÇ  
TEZ DANIŞMANI**

**DR.ÖĞR.ÜY.ADEM KURTULUŞ  
EŞ DANIŞMAN**

**DÜZCE-2023**

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (Etik Kurul Karar Numarası: 2022 /06/04 Toplantı Tarihi:15.06.2022)

## ÖNSÖZ

İhtisas sürecimde her türlü desteği sağlayan başta **Doç. Dr. Cengiz TUNCER**'e, cerrahi bilgi, birikim ve tecrübeleriyle yol gösteren **Dr.Öğr.Üy. Güven KILIÇ**'a, yardımlarını her zaman yakından hissettiğim **Dr.Öğr.Üy. Adem KURTULUŞ**'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Asistanlık eğitimimin başından itibaren yaklaşık 3.5 yıl birlikte çalıştığım nöroşirurji sevgimin kaynağı olan ve bana her dönemde varlığını hissettiren **Doç. Dr. Ömer POLAT**'a teşekkürlerimi sunuyorum.

İmmünohistokimya incelemelerinde desteklerini gördüğüm histoloji anabilim dalından **Dr. Öğr. Üy. Kayıhan KARAÇOR**, **Dr.Öğr. Üy. Hakan SOYLU**'ya, istatistik değerlendirmelerinde yardımlarını esirgemeyen Biyoistatistik anabilim dalından **Dr. Öğr. Üy. MehmetAli SUNGUR**'a, çalışmamızın deneysel kısmında destek veren veteriner hekim **Ali GÖK** ve **DÜDAM** ekibine ayrıca maddi desteklerini sunan Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunuyorum.

İhtisas sürecimde birlikte çalıştığım **Op. Dr. Doğan ŞENSOY**'a, **Dr. Mithat Can ATASOY**'a, **Dr. Amir HALABI**'ye, **Dr. Berk Enes ENGİN**'e ve tüm servis, yoğun bakım, ameliyathane hemşire ve personellerine teşekkürlerimi sunuyorum.

Paylaştığı tecrübeleri ve manevi desteklerinden dolayı yakın dostum **Op. Dr. Can ÜYÜK**' e teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunuyorum.

Beni bugünlere getiren ve her zaman yanımda olan, beni çocukluğumdan itibaren cerrahlığa özendiren babam **Ahmet YAKUPOĞLU** ve annem **Züleyha YAKUPOĞLU**' na sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunuyorum.

İhtisas sürecinin tüm zorluklarında her zaman yanımda olan ve bir an olsun manevi desteğini esirgemeyen, kızıma hem anne hem baba olan kıymetli hayat arkadaşım **Ece YAKUPOĞLU**' na ve beraber dolu dolu vakit geçiremediğimiz biricik kızım **Zeynep Duru**' ya sonsuz sevgilerimi sunuyorum.

**Kasım 2023**

**Dr. Muammer YAKUPOĞLU**

## ÖZET

Sitokinler, organizmada immün sistemin düzenlenmesinde ve proinflamatuvar-inflamatuvar süreçlerde önemli rol oynayan moleküllerdir. Yabancı antijen ve ajanlara karşı Sitokinler lokal ve sistemik inflamatuvar reaksiyonlarda rol alırlar. Sitokinlerin önemli bir bölümü interlökinlerdir. İnterlökin (IL)-6 ilk olarak preaktivasyon halindeki normal insan lenfositleri tarafından immünglobülin salgılatan bir faktör olarak tanımlanmıştır. IL-6 reseptörü membranda olan (IL-6R) ve çözünür (sIL-6R) olmak üzere 2 formdadır. Tosilizumab bu reseptörlere bağlanarak IL-6'nın rol aldığı sinyalizasyon ve inflamasyon sürecini inhibe eder. Bu çalışmada tosilizumab tedavisinin akut omurilik yaralanması (AOY) ile oluşan hasarda nöral doku üzerinde olumlu etkisinin olup olmadığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada deney ortamındaki düzenek yardımıyla sıçanlarda omurilik hasarlanması oluşturulmuş, omurilikte hasar oluşturduktan sonra sıçanlara düşük ve yüksek doz tosilizumab intraperitoneal olarak verilmiştir. Tosilizumab tedavisinin sonunda 8. günde sıçanlar sakrifiye edilerek patolojik inceleme için gönderilmiştir. Sonuçlar omuriliği hasarlanmış tosilizumab verilmeyen ve metil prednizolon verilen sıçanların sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Eğik düzlem, Drummond ve Moore Kriterleri, Hemotoksilen-eozin ve Cleaved caspase 3 immunohistokimyasal boyamasının sonuçlarına göre tosilizumab AOY ile oluşan hasarın giderilmesinde etkili bulunmuştur. Tedavi dozu yükseldiğinde bu etkinin arttığı izlenmiştir.

Tosilizumabın AOY tedavisinde faydalı olabileceği görülmüştür. Ancak daha geniş serilerde yapılmış klinik ve laboratuvar çalışmalarıyla bulguların desteklenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Tosilizumab, Akut omurilik yaralanması, Anti inflamatuvar, İnterlökin (IL)-6, Metil prednizolon

## **ABSTRACT**

Cytokines are molecules that play an important role in the regulation of the immune system and proinflammatory-inflammatory processes in the organism. Cytokines are involved in local and systemic inflammatory reactions against foreign antigens and agents. An important part of cytokines are interleukins. Interleukin (IL)-6 was first identified as an immunoglobulin-secreting factor by preactivated normal human lymphocytes. The IL-6 receptor exists in two forms: membrane (IL-6R) and soluble (sIL-6R). Tocilizumab binds to these receptors and inhibits the signal in inflammation processes in which IL-6 is involved. In this study, it was aimed to evaluate whether tocilizumab treatment has a positive effect on the neural tissue in the injury caused by acute spinal cord injury (ASCI).

In the study, spinal cord injury was created in rats with the help of the apparatus in the experimental environment, and low and high doses of tocilizumab were administered intraperitoneally to the rats after causing damage to the spinal cord. At the end of the tocilizumab treatment, on the 8th day, the rats were sacrificed and sent for pathological examination. The results were compared with the results of spinal cord injured rats not given tocilizumab and given methyl prednisolone.

According to the results of inclined plane, Drummond and Moore Criteria, Hematoxylin-eosin, Luxolfast and Cleavedcaspase 3 immunohistochemical staining, tocilizumab was found to be effective in removing the damage caused by ASCI. It was observed that this effect increased when the treatment dose was increased.

It has been observed that tocilizumab may be beneficial in the treatment of ASCI. However, the findings need to be supported by clinical and laboratory studies conducted in larger series.

**KEY WORDS:** Tocilizumab, Acute spinal cord injury, Anti-inflammatory, Interleukin (IL)-6, methylprednisolone

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfalar</u>
ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT .....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vii
TABLO DİZİNİ .....	viii
ŞEKİL DİZİNİ .....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENELBİLGİLER .....	3
2.1 Akut Omurilik Yaralanmasının Tarihçesi ve Epidemiyolojisi .....	3
2.2 Spinal Kord Embriyolojisi.....	4
2.3.1 Spinal Kord anatomisi .....	5
2.3.2 Spinal Kord Vasküler Yapısı .....	8
2.3.3 Spinal Kord İç Yapısı ve Fizyolojisi .....	10
2.4. Akut Omurilik Yaralanması Klinik sınıflanması ve Sendromları .....	11
2.4.1 ASİA sınıflaması.....	11
2.4.2 Klinik sendromlar .....	15
2.4.2.2. Brown-sequard sendromu .....	16
2.4.2.3. Anterior kord sendromu .....	17
2.4.2.4. Kauda equina sendromu .....	18
2.6. Akut Omurilik Yaralanması Patofizyolojisi .....	21
2.6.1 Birincil yaralanma .....	21
2.6.2 İkincil yaralanma .....	21
2.6.2.1 Sistemik etkiler .....	23
2.6.2.3 Elektrolit kaymaları .....	24
2.6.2.4 Biyokimyasal değişiklikler.....	24
2.6.2.5 Enflamasyon .....	25
2.6.2.6 Apoptoz .....	26
2.7. Akut Omurilik Yaralanması Patolojisi .....	27
2.7.1 AOY' DE akut faz .....	27

2.7.2 Subakut faz .....	28
2.7.2 Geç faz .....	29
2.8 Deneysel Akut Omurilik Yaralanması Modelleri .....	30
2.9 Akut Omurilik Yaralanmasında Tedavi .....	31
2.9.1 Akut Omurilik Yaralanmasında Cerrahi Tedavi .....	31
2.9.2 Akut Omurilik Yaralanmasında Medikal Tedavi .....	31
2.9.2.1 Metil Prednizolon .....	31
2.9.2.2 Magnezyum .....	32
2.9.2.4 Gangliozitler .....	32
2.9.2.6 Eritropoetin .....	33
2.9.2.7 Tosilizumab .....	34
2.9.2.7.1 IL-6 ve tosilizumab .....	34
2.9.2.7.2. Tosilizumab farmakokinetiği .....	35
2.9.2.7.3.Tosilizumab kullanılışı .....	35
2.9.2.7.4 Tosilizumab yan etkileri .....	35
<b>3.MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1. Deney Grupları.....</b>	<b>36</b>
<b>3.2. Anestezi.....</b>	<b>37</b>
<b>3.3 Cerrahi İşlem.....</b>	<b>37</b>
<b>3.4. Tosilizumab Veriliş Yöntemi ve Sıklığı .....</b>	<b>39</b>
<b>3.5. İyileşmeyi Değerlendirilme Kriterleri .....</b>	<b>39</b>
<b>3.5.1 Eğik düzlem ile değerlendirilmesi.....</b>	<b>40</b>
<b>3.5.2 Drummond Moore kriterleri ile değerlendirme .....</b>	<b>40</b>
<b>3.6. Spesmenin Alınışı .....</b>	<b>40</b>
<b>3.7.İşık Mikroskobu İncelemesi İçin Dokuların Hazırlanması .....</b>	<b>41</b>
<b>3.7.1.Hematoksilen &amp; eozin boyaması.....</b>	<b>42</b>
<b>3.7.2.Cleaved caspase 3'ün immünohistokimyasal boyaması.....</b>	<b>42</b>
<b>3.8. İmmünohistokimya Sonuçlarının İmageJ programı İle Analizi .....</b>	<b>43</b>
<b>3.9. İstatistiksel Analiz .....</b>	<b>44</b>
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>45</b>
<b>4.1 Eğik Düzlem ve D&amp;M Sonuçları.....</b>	<b>45</b>
<b>4.1.1 1. Gün grupların karşılaştırılması .....</b>	<b>45</b>

4.1.2 3. Gün grupların karşılaştırılması .....	47
4.1.3 7. Gün grupların karşılaştırılması .....	49
4.2 Histopatolojik Bulgular .....	51
4.3 Cleaved Caspase 3 İmmunohistokimya Bulguları.....	54
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇLAR.....	65
7. KAYNAKLAR .....	69



## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AMPA:  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit

AOY: Akut omurilik yaralanmaları

ASIA: The American Spinal Injury Association

BOS: Beyin omurilik sıvısı

BSS: Brown-Sequard sendromu

BT: Bilgisayarlı tomografi

DMARD: Hastalığı modifiye eden antiromatik ilaçlar

EPO: Eritropoetin

ISNCSCI: International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury

İHC : İmmünohistokimya

IL-1: İnterlökin 1

IL-6: İnterlökin 6

IL-6R: İnterlökin 6 reseptörü

K: Potasyum

KBB: Kan beyin bariyeri

MgSO<sub>4</sub>: Magnezyum sülfat

MRG: Manyetik rezonans

MS: Medullaspinalis

Na: Sodyum

NASCIS: National 27 Acute Spinal Cord Injury Studies

NMDA: N-metil-D-aspartat

NO: Nitrikoksit

SOR: Serbest oksijen radikalleri

TCZ: Tosilizumab

TNF: Tümör nekrozis faktör

TNF-  $\alpha$ : tümör nekrozis faktör 1

TNFR1: Tümör nekroz faktör reseptörü 1

TRAIL: TNF-related apoptosis-inducing ligand

## TABLO DİZİNİ

Tablo1: ASIA kas anahtarları

Tablo 2:ASIA kas gücü değerlendirmesi

Tablo3: ASIA sınıflaması ve nörolojik bulguları

Tablo 4: İkincil Hasar Mekanizmaları

Tablo 5: Drummond Moore kriterleri 0 puan 1 puan 2 puan 3 puan 4 puan

Tablo 6: Gruplarda İHC (İmmünohistokimya) değerleri

Tablo 7: 1.Gün grupların karşılaştırılması. Veriler ortanca (ÇAG, çeyrekler arası genişlik) ve [minimum-maksimum] değerler şeklindedir

Tablo 8: 3.Gün grupların karşılaştırılması. Veriler ortanca (ÇAG, çeyrekler arası genişlik) ve [minimum-maksimum] değerler şeklindedir

Tablo 9: 7.Gün grupların karşılaştırılması. Veriler ortanca (ÇAG, çeyrekler arası genişlik) ve [minimum-maksimum] değerler şeklindedir.

## **ŞEKİL DİZİNİ**

**Şekil1.** İnsan embriyo kesitlerinde intraembriyonik ve ekstraembriyonik mezodermin gelişimi

**Şekil2.** spinal kord ve spinal kökler

**Şekil3.** spinal sinirler

**Şekil4.**Medullaspinalisi saran zarlar

**Şekil5.**Medullaspinalis arterleri

**Şekil6.**Medullaspinalis iç yapısı ve saran zarları

**Şekil7.** Spinal kord yaralanmasında nörolojik sınıflama

**Şekil8.** Santral kord sendromu

**Şekil9.**Brown-sequard sendromu

**Şekil10.** Anterior kord sendromu

**Şekil11.** KaudaEquina Sendromu

**Şekil 12.** a- Normal Lomber BT, b- 3. Lomber Vertebra da kırık olan BT

**Şekil 13.** a- Normal Servikal MR, b- 5. Ve 7. Vertebrada kırık olan MR

**Şekil 14.** Sıçan kafeslerinin genel görünümü

**Şekil 15.** a-Sıçanların cerrahi öncesi prone pozisyonda povidon iyot ile dezenfekte edilmesi, b-Cilt insizyonu ve paravertebral kasların sıyırılması sonrası ekartör yerleştirilmesi, c-Laminektomi sonrası spinal dura görünümü

**Şekil 16.** Anevrizma klibi uygulanması

**Şekil 17.** İntraperitoneal tosilizumab verilışı

**Şekil 18.** a-eğik düzlem testi, b- AOY oluşturulan segment, c- grup ve sıçan numaralarının yazıldığı kaplar

**Şekil 19.** a) Gruplarda 1.gün aç değeri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

**Şekil 20.**a) Gruplarda 1.gün D&M değeri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

**Şekil 21.**a) Gruplarda 3.gün aç değeri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

**Şekil 22.**a) Gruplarda 3.gün D&M değeri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

**Şekil 23.**a) Gruplarda 7.gün aç değeri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

**Şekil 24.** a) Gruplarda 7.gün D&M değeri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

**Şekil 25.** Kontrol grubu hematoksilen&eozi boyaması temsili mikrofafi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir.

**Şekil 26.** İnjury-sham grubunda hematoksilen&eoizin boyaması temsili mikrografı. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

**Şekil 27.** İnjury + Metil prednizolon 30 mg/kg grubu hematoksilen&eoizin boyaması temsili mikrografı. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

**Şekil 28.** İnjury + Tosilizumab (4 mg/kg) grubu hematoksilen&eoizin boyaması temsili mikrografı. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

**Şekil 29.** İnjury + Tosilizumab (8 mg/kg) grubu hematoksilen&eoizin boyaması temsili mikrografı. kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

**Şekil 30.** Kontrol grubu CleavedCaspase 3 ekspresyonu temsili mikrografı. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

**Şekil 31.** İnjury-sham grubu CleavedCaspase 3 ekspresyonu temsili mikrografı. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

**Şekil 32.** İnjury + Metil prednizolon 30 mg/kg grubu CleavedCaspase 3 ekspresyonu temsili mikrografı. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

**Şekil 33.** İnjury + Tosilizumab (4 mg/kg) grubu CleavedCaspase 3 ekspresyonu temsili mikrografı. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

**Şekil 34.** İnjury + Tosilizumab (8 mg/kg) grubu CleavedCaspase 3 ekspresyonu temsili mikrografı. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

**Şekil 35.** Gruplarda İHC (immünohistokimya) değerleri

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Akut omurilik yaralanması (AOY), genellikle morbidite ve kalıcı sakatlıkla ilişkili ciddi bir tıbbi durumdur. Omurilikten geçen sinirlerin aksonları bozulduğunda meydana gelmektedir ve yaralanma seviyesinin altında motor ve duyu fonksiyon kaybına yol açmaktadır. Yaralanma genellikle büyük travmaların sonucu olmaktadır ve birincil yaralanma genellikle geri döndürülemezdir. Bu yaralanmalar, özellikle 30 yaşın altındaki hastaları daha fazla etkiledikleri gibi kişinin yaşamının geri kalanında önemli işlevsel bozukluklara yol açtığı ve kişiyi artan morbidite ve mortaliteye yol açan çok sayıda komplikasyon riskine soktuğu için özellikle toplumsal maliyeti yüksektir. AOY' nin ömür boyu 2 ila 4 milyar dolarlık bir ekonomik etkisi olduğu tahmin edilmektedir (1).

Küresel olarak her yıl 250.000 ila 500.000 hastada omurilik yaralanması yaşanmaktadır. Bu vakaların büyük bir kısmı motorlu araç kazaları ve yüksek enerjili travma gibi önlenemez nedenlerden kaynaklanmaktadır (2). Türkiye'de 1992'de beş yüz seksen bir yeni travmatik AOY vakası bildirilmiştir ve yıllık insidans milyon nüfus başına 12.7 olarak bulunmuştur. Özellikle 20-50 yaş arası gençlerde sık görülmektedir. Erkek/kadın oranı 2,5/1 dir (3). En sık yaralanma nedeni sırasıyla motorlu taşıt kazaları, düşme, bıçak yaralanması, ateşli silah yaralanması ve dalış yaralanmasıdır. Bu yaralanmaların yaklaşık 1/3 ü tetraplejik iken 2/3 ü paraplejik olmaktadır. En yaygın yaralanma seviyesi tetraplejikler arasında C5 ve paraplejikler arasında T12 olarak görülmektedir (4). AOY ile ilişkili patofizyolojiyi evreleri ve çeşitli yara iyileşme mekanizmalarını anlamak ve uygun iyileşme tedavilerinin geliştirilmesi için esastır.

Akut omurilik yaralanması (AOY) iki şekilde olmaktadır. Primer yaralanma; nöral parankim yıkımını, aksonal ağın bozulmasını, kanamayı ve glial zarın bozulmasını içermektedir ve önlenemez niteliktedir. Primer yaralanma spinal dokularda daha fazla kimyasal ve mekanik hasar oluşturan ikincil yaralanmayı tetiklemektedir ve hücrelerde yüksek kalsiyum birikimi nedeniyle nöronal eksitotoksisteye yol açmaktadır. Oluşan eksitotoksiste reaktif oksijen konsantrasyonlarını ve glutamat seviyelerini artırmaktadır. Bu insidanslar altta

yatan nükleik asit, proteinler ve fosfolipidlere zarar vermektedir ve nörolojik işlev bozukluğuna neden olmaktadır. İkincil yaralanma aşaması, birincil yaralanma aşamasını takip eden çok özellikli patolojik süreçleri yansıtılmaktadır ve birkaç hafta sürmektedir. Sekonder hasar, artan hücre geçirgenliği, apoptotik sinyal, iskemi, vasküler hasar, ödem, eksitotoksisite, iyonik deregülasyon, inflamasyon, lipid peroksidasyonu, serbest radikal oluşumu, demiyelinizasyon, Wallerian dejenerasyonu, fibroglial skar ve kist oluşumunu içermektedir. Kan damarlarının bozulması, omurilik dokularında hemorajiye neden olmaktadır ve bunu monositler, nötrofiller, T ve B lenfositik hücreler ve makrofajların omurilik dokularına invazyonu izlemektedir (5). İkincil yaralanma ile ilgili henüz etkin bir tedavinin bulunmaması nedeniyle günümüzde hala potansiyel terapötik ajanların klinik araştırılması devam etmektedir.

Bu çalışmada, bir IL-6 reseptör agonisti olarak görev yapan hümanize bir monoklonal antikör olan tosilizumabın akut omurilik yaralanması (AOY) sonrası oluşan hasarda nöral doku üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENELBİLGİLER

### 2.1 Akut Omurilik Yaralanmasının Tarihçesi ve Epidemiyolojisi

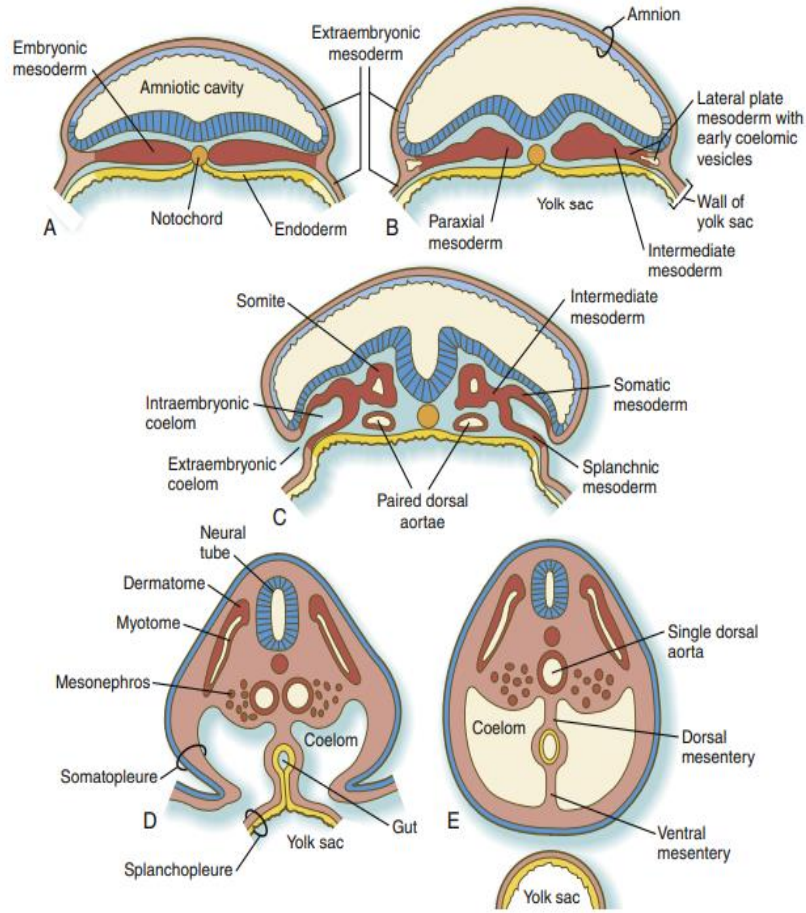
AOY tüm yönleri ile ele alındığında psikososyal, kişisel ekonomik açıdan verdiği zararlar ile ileri derecede önemszenmesi gereken bir halk sağlığı sorunudur. Mortalite ve morbiditenin yanı sıra etkilediği omurilik düzeyine göre solunum sistemi, gastrointestinal sistem, otonom sinir sistemi, deri ve ürogenital sistem üzerinde de kayıplara neden olabilmektedir. AOY' nin bilinen tarihi, antik çağlara, bilinen en eski tıp ve cerrahi kayıtlarına kadar izlenebilmektedir. Mısır'da Milattan Önce 2500-3000 civarında (MÖ) yazıldığı düşünülen Edwin Smith Papirüsü omurilik cerrahisi tekniklerini tanımlamasına rağmen belge AOY' yi açıkça "tedavi edilmemesi gereken bir hastalık" olarak tanımlanmaktadır (6). Klasik antik çağda AOY' ye ilk referanslar Homer'in çalışmalarından gelmektedir. İlyada, ilki Aşil' in neden olduğu savaştan kaynaklanan iki AOY vakasını anlatırken; Odyssey, sarhoşken çatıdan düşerek boynunu kıran ve bunun sonucunda ölen bir karakteri anlatmıştır (7). Hipokrat AOY ile ilişkili komplikasyonları önleme konusunu gündeme getiren ilk kişi olmuştur (8). Dahası Hipokrat omurganın anatomisini tanımlamış ve AOY' leri azaltmak için traksiyon yöntemini ayrıntılı olarak açıklamıştır ve açık redüksiyona karşı çıkmıştır. AOY araştırmasının doğuşu, Galen' in omurilik seviyelerine yönelik öncü deneyleriyle Roma döneminde başlamıştır (9). Bununla birlikte, Bizans İmparatorluğu zamanına kadar, Aegina' lı Paul' un ilk kez 7. Yüzyıl ortalarında cerrahi dekompresyon uygulamasıyla AOY için cerrahi müdahale başlatılmıştır. Ayrıca splintleme şeklinde spinal fiksasyonun öncüsü olmuştur. Bu ilerlemelere rağmen, aralarında büyük İranlı doktor İbni Sina' nın yanı sıra 16. Yüzyılın sonlarında Fransız Ambroise Pare' nin de bulunduğu pek çok kişi AOY' nin nihai olarak ölümcül olduğuna dair Edwin Smith Papirüsü'nün söylediklerini kabul etmişlerdir. 19. Yüzyıl sonlarına doğru, spinal fiksasyonda da çeşitli gelişmeler görülmüştür. Birleşik Krallık'ta Burrell, AOY ameliyatının ardından alçı bir ceket kullanırken, Amerika Birleşik Devletleri' nde Hadra iç fiksasyona öncülük etmiştir. Spinal cerrahideki en büyük ilerlemeler, 20. yüzyılın ilk on yılında Bonomo tarafından hemilaminektominin tanıtılması ve Lange tarafından fiksasyon tekniğinin geliştirilmesinde olmuştur (10). Bu zaman diliminde tıbbi görüntüleme, 1895'te X-

ışınlarının keşfiyle ortaya çıkmıştır. Görüntüleme, özellikle 1921'de miyelografi tekniğinin geliştirilmesinden sonra, AOY teşhisinde çok önemli hale gelmiştir (11). Rivlin ve Tator tarafından 1978' de sıçanlarda omurilik yaralanmasının bir "klip sıkıştırma" modeli tanıtılmıştır. Bu model, nörolojik hasarın ciddiyeti ile kompresyon süresi arasındaki ilişkiyi göstermek ve aslında sıçanda deneysel yaralanmalar üretmenin mümkün olduğunu göstermek için önemli olmuştur (12).

AOY bireyi fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Ulusal spinal kord yaralanma istatistik merkezi (NSCISC) verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri' nde (ABD) yıllık AOY insidansı yaklaşık 54/1000000 olarak bildirilmiştir. 2017 rakamlarına göre AOY' nin yıllık prevalansı yaklaşık 285000 kişidir. Bu yaralanmalarda ortalama yaş 42 ve bu vakaların %81 i erkek olarak bildirilmiştir (13).

## **2.2 Spinal Kord Embriyolojisi**

Embriyolojik dönemde 1. haftanın bitimine doğru epiblast ve hipoblast tabakaları gelişmektedir (14). Embriyolojik dönemde 1. Haftayı takiben epiblast hücrelerinin ucunda Hensen düğümü olarak adlandırılan ilkel bir yarık oluşmaktadır. Sonrasında gastrulasyon dönemi başlamaktadır. Gastrulasyon ile ektoderm mezoderm ve endodermin oluşmasıyla embriyolojik dönemin 2. Haftası tamamlanmaktadır (15). Üçüncü embriyolojik hafta süresince embriyonun dorsal sagittal hattında bulunan ektoderm kalınlaşmaya başlamakta ve nöral tüpü oluşturmaktadır. Mezoderm spinal kanal çevresini oluşturmakta iken ektoderm ise spinal kanalı oluşturmaktadır. Nöral tüp ve nöral plağın 2/3 rostral bölümü beyni oluşturmakta, kaudal 1/3 kısmı ise omuriliği oluşturmaktadır. Omurilik fetal dönemde 3. ayda tüm vertebral kolon boyunca uzanmakta, 5. ayda sakrum düzeyine kadar, doğumda ise L3 vertebra düzeyine kadar yükselmektedir. Vertebral kolonun gelişiminin bir sonucu olarak erişkin dönemde omurilik L1 vertebra düzeyine kadar yükselmektedir (16).

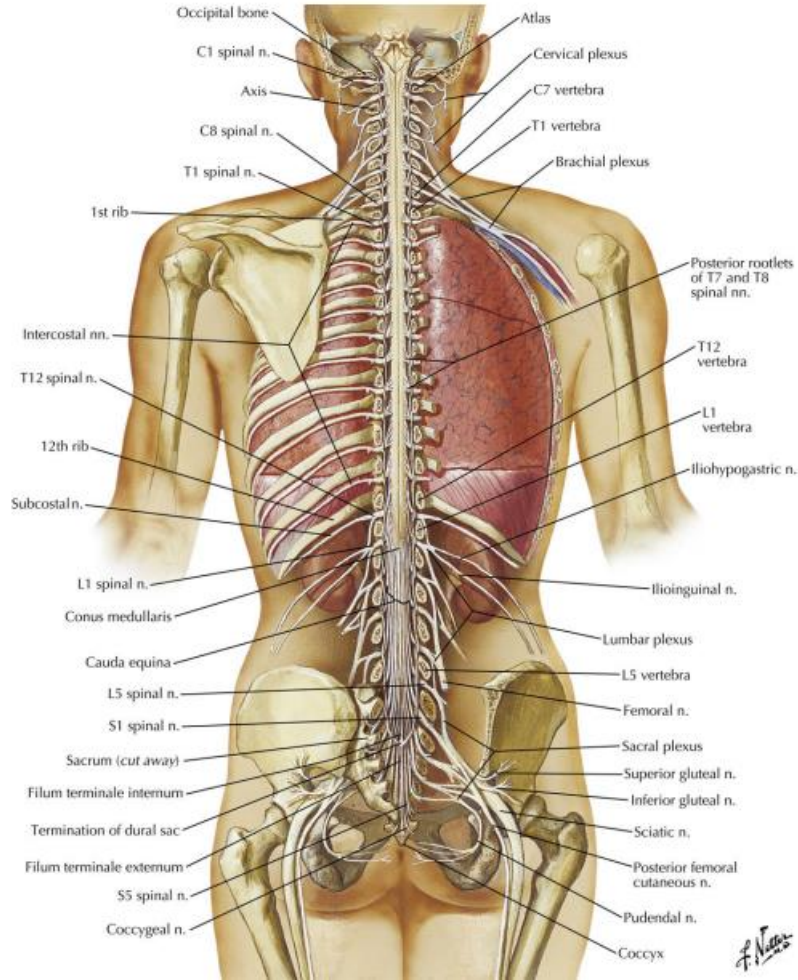


**Şekil 1.** İnsan embriyo kesitlerinde intraembriyonik ve ekstraembriyonik mezodermin gelişimi (17).

### 2.3.1 Spinal Kord anatomisi

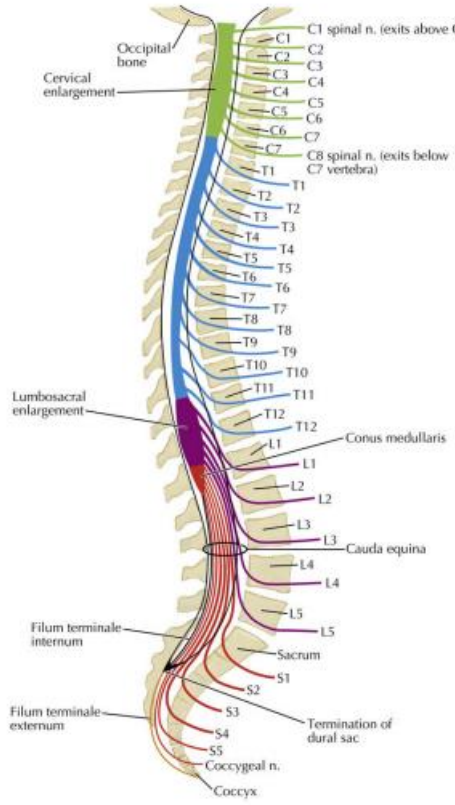
Medulla spinalis (MS) medulla oblongatanın devamı şeklinde foramen magnumdan başlamakta ve koni şeklinde olan alt ucu erkeklerde L1-L2 omurları arasındaki diskus intervertebralis hizasına, kadınlarda ise L2 alt sınırına kadar uzanır. MS alt ucunda konus medullaris oluşturmak üzere incelik ve ince bir piamater uzantısı olan filum terminale birinci koksigeal vertebranın arka yüzüne tutunarak sonlanır. MS yaklaşık olarak 42-45 cm uzunluğunda ve 30 gram ağırlığındadır. MS kanalis vertebralis içerisinde yer almaktadır. Canalis vertebralisin üst 2/3 kısmında yer alır ve dura mater, araknoid mater ve pia mater isimli üç zar ile çevrilidir. MS'nin korunmasında yükümlü olan yapılar en dışta omurga ve bağları, üç tabakalı meningeal zarlar ve bu zarların derindeki iki tabakası arasında yer alan beyin omurilik sıvısıdır. MS kesitlerinin ortasında yer alan kanalis sentralis yukarıda 4. ventrikül ile başlamakta aşağıda konus medullaris içinde fusiform şekilde ventrikülüs

terminalis olarak genişlemekte ve altta filum terminalenin kökü içinde son bulmaktadır (Şekil-2).



Şekil 2. spinal kord ve spinal kökler (18).

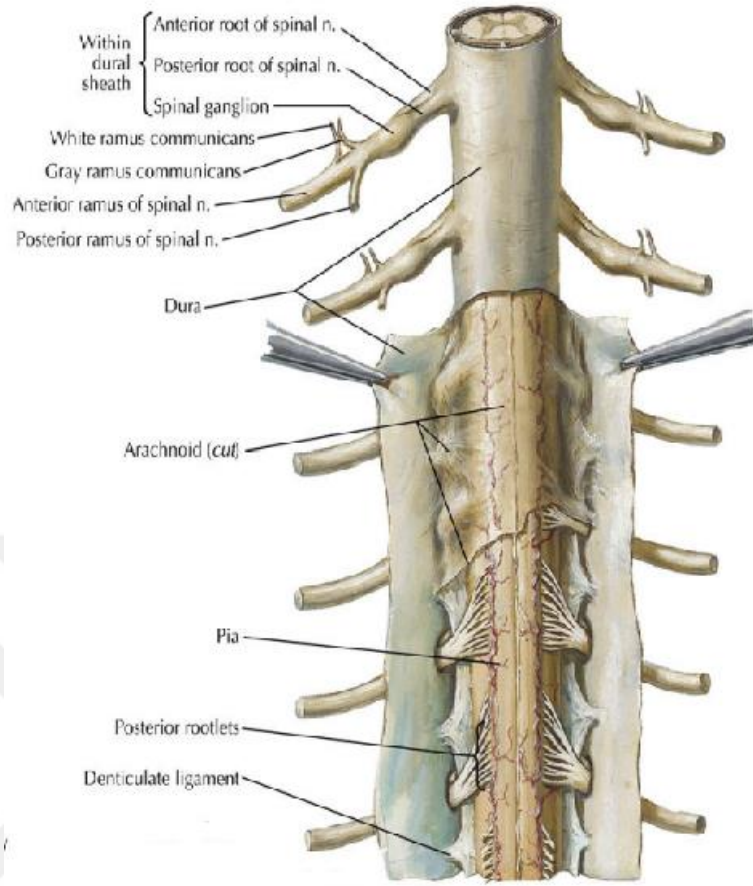
Lumbal ve sakral spinal segmentlerden çıkan spinal sinir kökleri filum terminale çevresinde at kuyruğuna benzer kauda ekuina adı verilen yapıyı oluşturmaktadır. MS servikal ve lomber bölgelerde iki adet genişleme göstermektedir. Bu genişlemeler intumessensia servikalıs ve intumessensia lumbosakralıs olarak adlandırılmaktadır. MS' e tüm uzunluğu boyunca radikls anterior (motor) ve posterior (duysal) tarafından oluşturulan 8 servikal, 12 torakal, 5 lomber, 5 sakral, 1 koksigeal olmak üzere 31 adet spinal sinir tutunmaktadır (Şekil-3).



Şekil 3. Spinal sinirler (18).

MS iç kısmı gri maddeden yapıli substantia grisea olarak isimlendirilirken bunu kaplayan dış kısmı substansia alba olarak isimlendirilmektedir. Gri maddeyi miyelinsiz sinir lifleri ve hücre gövdeleri, beyaz maddeyi ise miyelinli sinir lifleri oluşturur.

MS' in zarları 3 tanedir. Dura mater MS' in en dışında bulunan fibröz yapıda sağlam bir zardır. Dura mater üst seviyede foramen magnum vasıtasıyla devam ederek filum terminalede sonlanmaktadır. Araknoid mater ince ve geçirgen olmayan yapıyla, pia mater ile arasında beyin omurilik sıvısı dolu olan spatium subaraknoideum ile ayrılarak filum terminalede sonlanmaktadır. Pia mater vasküler açıdan zengin bir zar olarak MS' i sıkıca sarmaktadır. Pia mater ligamentum dentikulatumu bilateral sinir kökleri arasında kalınlaşarak oluşturmaktadır. Ligamentum dentikulatum araknoid ve dura matere laterale doğru uzanarak yapışmakta ve MS' in dural kılıfın ortasında fikse kalmasını sağlamaktadır (19,20). (şekil-4).

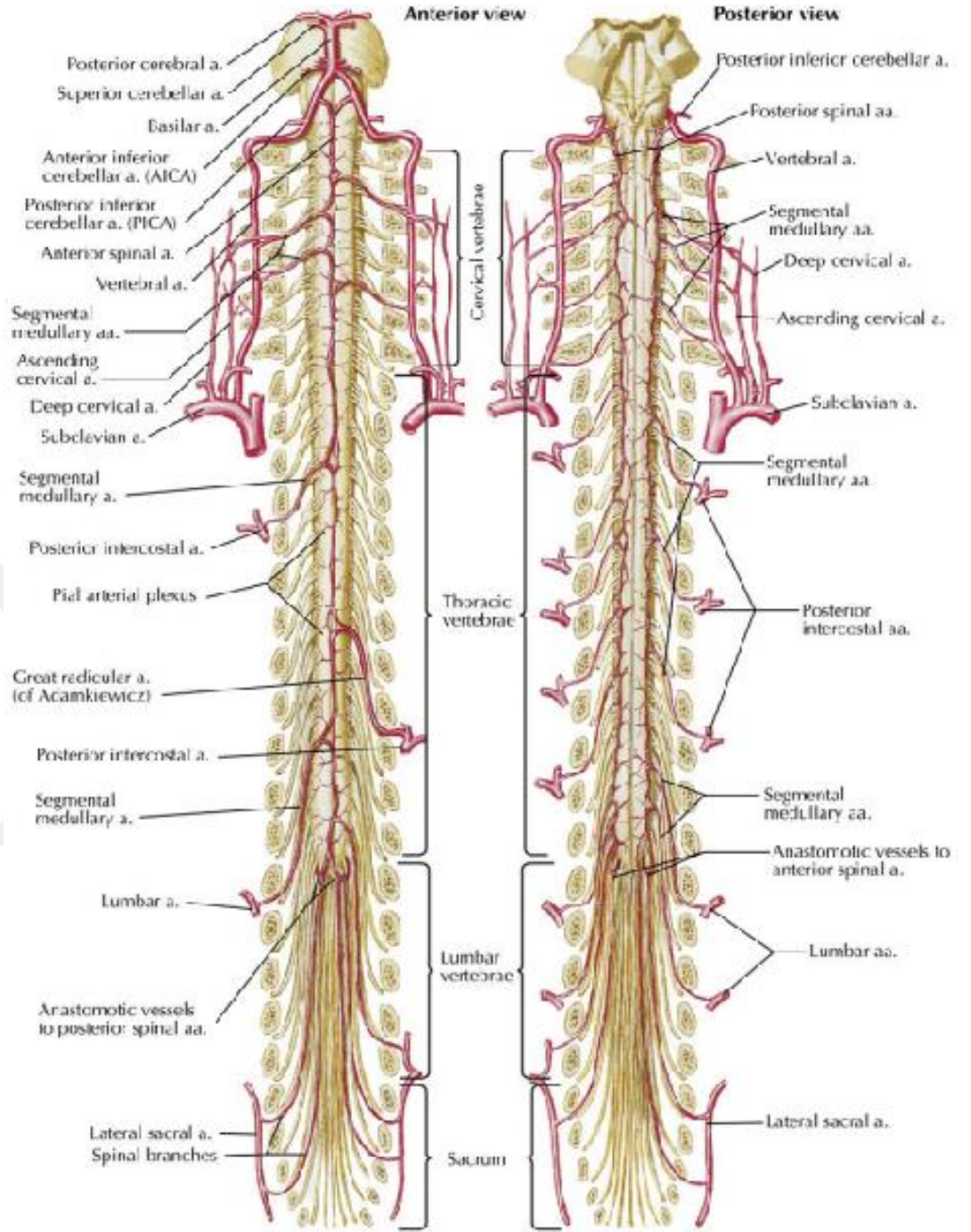


Şekil 4. Medulla spinalisi saran zarlar (18).

### 2.3.2 Spinal Kord Vasküler Yapısı

Spinal kord 3 arter tarafından beslenmektedir. Arteria inferior posterior serebelli veya arteria vertebralislerden çıkan posterior spinal arterler MS'in arka 1/3 ünü beslemektedir. Arteria vertebralislerden çıkan arterlerin birleşmesiyle meydana gelen anterior spinal arter ise MS'in ön 2/3 ünü beslemektedir. Foramen intervertebralislerde ise segmental arterler ile desteklenmektedir.

Arteria radicularis anterior magna (Adamkiewicz arteri) alt torakal ya da üst lomber düzeydeki aortadan tek taraflı çıkmaktadır. MS'e daha çok sol taraftan giren bu arter MS'in T8 ve konus medullarisin arasındaki alt 2/3 ü besleyen önemli bir arterdir. Orta torakal bölge baskı ve hasara daha yatkın bir bölge olmakla birlikte sadece T4 ve T5 düzeyindeki radiküler arterlerden beslendiğinden bu bölge 'watershedzone' olarak adlandırılmaktadır (19,21).



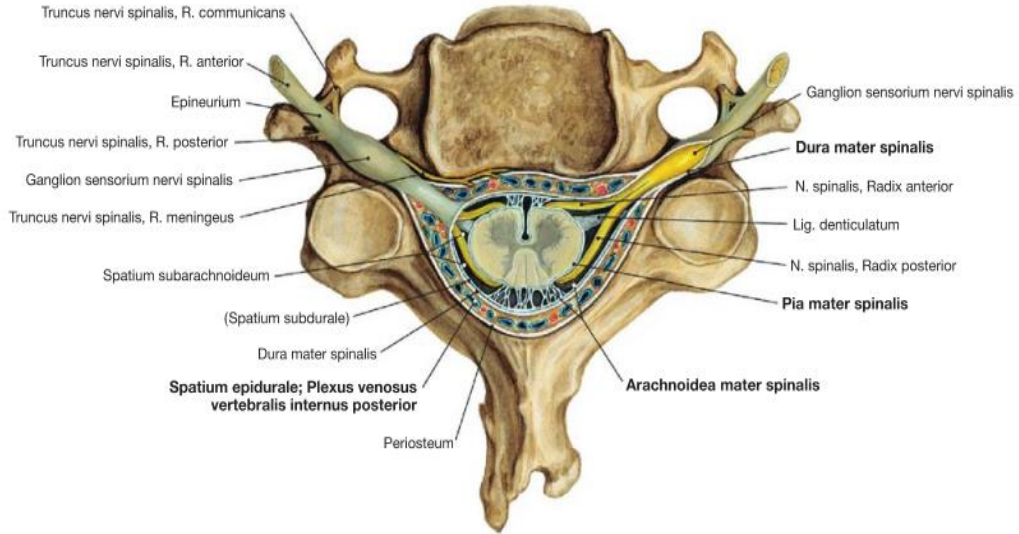
Şekil 5. Medullaspinalis arterleri(18).

MS'in venleri arterler ile paralel şekilde yerleşim göstermektedirler. Anteromedial ve anterolateral venler anterolongitudinal turunkusu oluşturmaktadır. MS' in anterolateral kısmı anterolateral venlere drene olmaktadır. MS' in posterior bölgesini ise posterior longitudinal venöz turunkuslar drene etmektedir. Klivustan sakruma kadar uzanan hem anterior hem posterior da geniş bağlantılar oluşturan venöz pleksuslar da epidural alanda venöz drenaja katkı sağlamaktadır (22).

### 2.3.3 Spinal Kord İç Yapısı ve Fizyolojisi

MS transvers kesitte incelendiğinde substansi alba ve substansia grisea olmak üzere iki maddeden oluşmaktadır. İç kısmı oluşturan gri madde dış kısmını oluşturan ise ak maddedir. Spinal nöronların hücre gövdeleri ve dentritleri substansia griseayı oluşturmaktadır. Miyelinli sinir lifleri, nöroglia ve kan damarları ise substansia albayı oluşturmaktadır. Ak madde ve gri maddenin MS düzeyine göre sınırları farklılık göstermektedir. Beyaz madde servikal bölgede kısmen kalın olup kaudale doğru kütlesi giderek azalır. Gri madde ise servikal ve lomber genişlemelerde daha fazla gelişmiştir. Buralar motor ve duysal anlamda extremité işlevlerini sağlayan nöronları oluşturmaktadır (23).

Gri madde transvers kesitte kanalis sentralisi de içererek kommissura grisea ile birbirine bağlanmış kolumna anterior ve posteriorlardan oluşan 'H' harfi şeklinde görülmektedir (Şekil-6). Gri maddenin torasik ve üst lomber seviyelerinde küçük bir kolumna lateralis bulunmaktadır (23).



Şekil 6. Medulla spinalis iç yapısı ve saran zarları (24).

Ağrı ve dokunma ile afferentleri alan substansia jelatinoza, pozisyon hareket duyusu, iki nokta ayırımı ve vibrasyon duyusu ile ilgili nükleus proprius, proprioseptif sonlanmalarla ilgili olan visseral afferent çekirdek nükleus dorsalis ve 1. Torasik segmentten 3. Lomber segmente uzanıp visseral afferent bilgi alımı ile ilgili olan clark sütunu ile beraber kolumna posteriorda dört sinir hücre grubu bulunmaktadır (23).

Kolumna lateralis 1. Torasik segmentten 2 ya da 3. Lomber segmente kadar uzanarak preganglionik sempatik lifleri vermektedir (23).

Kanalis sentralis 4. Ventrikül boşluğunun devamı olup MS boyunca bulunmaktadır. Kanalis sentralisin içi BOS (Beyin Omurilik Sıvısı) ile doludur. Kanalis sentralis duvarları ependim denilen silyalı kolumnar epitel ile döşelidir.

Kortikospinal traktus ve rubrospinal traktus olmak üzere inen yollar iki gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar omuriliğin ekstremitelelerin distal kaslarını denetleyen kısmını oluşturmaktadır. Bu grupların harabiyeti ekstremitelelerin ince kademeli kontrolünün kaybıyla sonuçlanmaktadır. Ön ve yan retikülospinal traktlar, tektospinal trakt yan ve medial vestibülospinal traktlar ve intersitiospinal traktlar diğer inen yolları oluşturmaktadır (23).

Vücudun alt ve üst parçalarından ince ve ayırt edici duyuları taşıyan fassikulus grasilis ve fassikulus küneatus, arka ve ön spinoserebellar traktlar ile spinooliver, spinotektal ve spinoretiküler traktlar çıkan yolları oluşturmaktadır(23).

Propriospinal yollar omuriliğin farklı düzeylerindeki aktiviteyi koordine ve spinal reflekslere aracılık etmesine önem taşımaktadır (23).

#### **2.4. Akut Omurilik Yaralanması Klinik sınıflanması ve Sendromları**

##### **2.4.1 ASIA sınıflaması**

Günümüzde AOY olan hastaların muayenesinde ve sınıflamasında The American Spinal Injury Association (ASIA) tarafından belirlenen International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury (ISNCSCI)' nın kullanılması önerilmektedir. ASIA sınıflaması ASIA tarafından geliştirilen bu standart 2013 yılında son halini almıştır. Bu yayınlanan son versiyonun daha öncekilerden en önemli farkı anahtar olmayan kaslara yer verilmesidir. Gündüz ve arkadaşları 2013 yılında yayınlanan son halini Türkçeye çevirmişlerdir (25).

Patient Name \_\_\_\_\_

Examiner Name \_\_\_\_\_ Date/Time of Exam \_\_\_\_\_



### STANDARD NEUROLOGICAL CLASSIFICATION OF SPINAL CORD INJURY



**MOTOR**  
KEY MUSCLES (scoring on reverse side)

	R	L	
C5	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Elbow flexors
C6	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Wrist extensors
C7	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Elbow extensors
C8	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Finger flexors (distal phalanx of middle finger)
T1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Finger abductors (5th finger)
UPPER LIMB TOTAL (MAXIMUM) <input type="checkbox"/> + <input type="checkbox"/> = <input type="checkbox"/> (20) (20) (40)			

Comments: \_\_\_\_\_

**LOWER LIMB**

	R	L	
L2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Hip flexors
L3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Knee extensors
L4	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Ankle dorsiflexors
L5	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Long toe extensors
S1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Ankle plantar flexors
LOWER LIMB TOTAL (MAXIMUM) <input type="checkbox"/> + <input type="checkbox"/> = <input type="checkbox"/> (20) (20) (40)			

Voluntary anal contraction (Yes/No)  S4-S5

**SENSORY**  
KEY SENSORY POINTS

0 = absent  
1 = impaired  
2 = normal  
NT = not testable

Any anal sensation (Yes/No)   
PIN PRICK SCORE (max 112)   
LIGHT TOUCH SCORE (max 112)

**NEUROLOGICAL LEVEL**  
This must always agree with normal function.

	R	L
SENSORY MOTOR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**COMPLETE OR INCOMPLETE?**   
Incomplete = Any sensory or motor function in S4-S5

**ASIA IMPAIRMENT SCALE**

**ZONE OF PARTIAL PRESERVATION**   
Greatest extent of partially preserved segments

	R	L
SENSORY MOTOR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

*This form may be copied freely but should not be altered without permission from the American Spinal Injury Association.*

REV 03/06

Şekil 7. Spinal kord yaralanmasında nörolojik sınıflama (25).

ASIA tarafından geliştirilen bu değerlendirmenin esas önemi tedavi seçimi, iyileşmenin gözlenmesi, prognozun belirlenmesi ve klinisyenler açısından ortak bir dil oluşturulması açısından dır. Nörolojik muayenenin önde gelen 2 komponenti motor ve duyu muayenesidir. Hastanın muayenesi supin pozisyonda yapılır. Standartlara göre her iki tarafta 10 ar adet anahtar kas belirlenmiştir.

**Tablo 1.** ASIA kas anahtarları(26).

**ASIA ISNCSCI' YA GÖRE ANAHTAR KASLAR**

<b>SEVIYE</b>	<b>Anahtar Kas</b>
C5	Dirsek Fleksörleri
C6	El bileği ekstansörleri
C7	Dirsek ekstansörleri
C8	Parmak fleksörleri
T1	Parmak abduktörleri(5.parmak)
L2	Kalça fleksörleri
L3	Diz ekstansörleri
L4	Ayak bileği dorsifleksörleri
L5	Başparmak ekstansörleri
S1	Ayak bileği plantar fleksörleri

Anahtar kas gücünün muayenesinde ASIA tarafından belirlenmiş olan pozisyonda muayene edilmektedir. Kaslar manuel olarak değerlendirilir ve 0 ile 5 arasında puanlandırılır. ASIA seviyesinin belirlenmesinde anahtar kaslarla beraber anahtar olmayan kaslar da kullanılmaktadır. Duyu muayenesinde hafif dokunma ve iğne batma değerlendirilmektedir. Her dermatom ayrı ayrı standart nokta üzerinden değerlendirilmektedir. Duyu muayenesi değerlendirilirken hastanın gözlerini kapatması istenmektedir. Hafif dokunma duyusu bir parça pamuk ile yapılırken keskin künt ayrımı iğne ile yapılmaktadır. Hastanın dokunma duyusu ve sivri künt ayrımını yapıp yapamadığı şüpheli durumlarda 10 kez tekrarlanır. Verilen 8 doğru cevap yeterli kabul edilmektedir (27).

**Tablo 2.** ASIA kas gücü değerlendirmesi (26).

<b>ASIA ISNCSCI'YA GÖRE KULLANILAN KAS GÜCÜ EVRELEMESİ</b>	
<b>Kas gücü</b>	
<b>0</b>	Total paralizi
<b>1</b>	Palpe edilebilir veya görülebilir kontraksiyon
<b>2</b>	Aktif hareket, yer çekimi elimine edildiğinde tüm eklem açıklığını (EHA) tamamlar
<b>3</b>	Aktif hareket, yer çekimine karşı EHA'yı tamamlar
<b>4</b>	Aktif hareket, yer çekimine ve orta dirence karşı EHA'yı tamamlar
<b>5</b>	(Normal)Aktif hareket, tam dirence ve yerçekimine karşı EHA'yı tamamlar
<b>5*</b>	(Normal)Aktif hareket, ağrı ve benzeri inhibe edici faktörler kaldırıldığında yeterli dirence ve yerçekimine karşı EHA'yı tamamlar.
<b>NT</b>	Test edilemedi

Nörolojik muayenenin tamamlanması için bu değerlendirmelerin yanında istemli anal kontraksiyon ve derin anal basınç olup olmadığının da muayene edilmesi gerekmektedir. Hastalar duyu ve motor muayeneleri yapılarak nörolojik seviye belirlendikten sonra ASIA A, B, C, D ve E olmak suretiyle 5 sınıfta incelenmektedir. ASIA sınıflaması;

**Tablo 3.**ASİA sınıflaması ve nörolojik bulguları (26).  
**MUAYENE BULGULARI**

**ASIA**

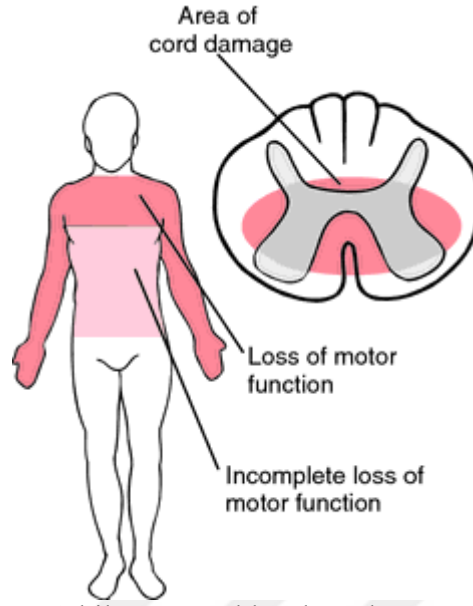
<b>A</b>	➤ S4-5 segmentleri dahil tam motor ve duyu kaybı olması
<b>B</b>	➤ Lezyon seviyesi altında sensorial fonksiyon korunmuş halde tam motor kayıp olması
<b>C</b>	➤ Lezyon seviyesi altında anahtar kasların yarısından azının kas gücünün grade 3 üzerinde olması ve sensorial fonksiyonun korunmuş halde olması
<b>D</b>	➤ Lezyon seviyesi altında anahtar kasların yarısından fazlasının kas gücünün grade 3 üzerinde olması ve sensorial fonksiyon korunmuş halde olması
<b>E</b>	➤ Tüm motor ve duyu fonksiyonlarının normal olması

#### **2.4.2 Klinik sendromlar**

Bazı nörolojik sendromların bilinmesi ASIA sınıflamasında yer alması da yaralanmanın değerlendirilmesinde öneme sahiptir. Aşağıda bahsedilecek sendromlar ISCNCISİ' nin 2011 versiyonunda yer almaktadır.

##### **2.4.2.1 Santral kord sendromu**

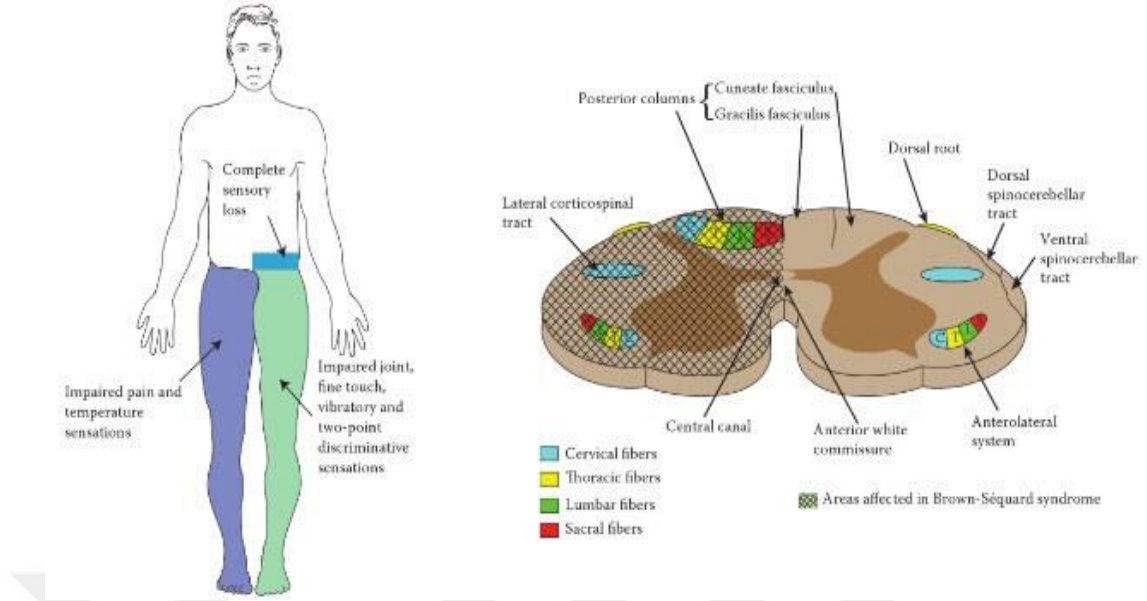
En sık karşılaşılan AOY tipidir. Genellikle spondilozisi olan yaşlı hastalarda meydana gelmektedir. Santral kord sendromu çoğunlukla hiperekstansiyon yaralanmaları sonrasında gelişmektedir. Motor fonksiyonlar duyu fonksiyonlardan ve üst ekstremiteler alt ekstremitelerden daha fazla etkilenmektedir (28). Santral kord sendromunun prognozu değişkendir ve çoğu hastada bir dereceye kadar nörolojik iyileşme olmaktadır. Genç travma hastaları ve acil tıbbi yardım isteyenlerin nörolojik iyileşme şansı daha yüksektir. Prognostik faktörler yaş, ilk nörolojik defisit şiddeti ve ilk MRG bulgularını içermektedir. Santral kord sendromlu hastalar, yaralanmadan sonra önemli nörolojik fonksiyonları geri kazanırlar; çoğu durumda yürüme kapasiteleri düzeltilmektedir fakat bazı nörolojik bozukluklar devam etmektedir. İyileşme genellikle artan bir şekilde gerçekleşir ve önce motor bacak fonksiyonu düzeltilmektedir. Sonrasında mesane kontrolü ve ardından proksimal kollar gelmektedir (29,30).



Şekil 8. Santral kord sendromu.

#### 2.4.2.2. Brown-sequard sendromu

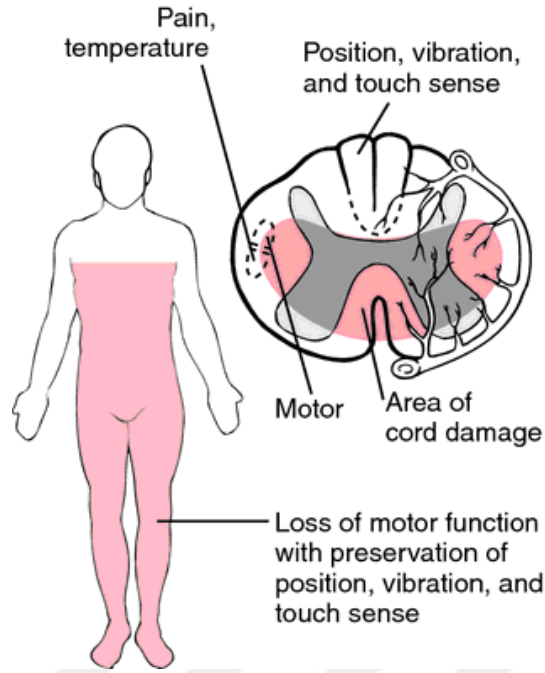
Brown-Sequard sendromu (BSS) medulla spinalisin bir yarısının anatomik olarak bütünlüğünün bozulması olarak tariflenmektedir. Lezyon seviyesinin altında lateral kortikospinal trakstus ve çıkan yollardan dorsal kolon ve spinotalamik traktusun etkilenmesi sebebiyle ipsilateral propriyosepsiyon, vibrasyon ve motor kaybı oluşurken karşı tarafta ise ağrı ve ısı duyusu kaybı oluşmaktadır. BSS genellikle penetran bir AOY' ye sekonder oluşmaktadır. Ayrıca neoplazmalar, disk herniasyonu, demiyelinizasyon ve inflamatuvar lezyonlar sonrasında da görülmektedir. BSS diğer akut omurilik yaralanması türleri ile karşılaştırıldığında olumlu prognoz göstermektedir. BSS' li hastaların en az %75' i fizik tedavi ve rehabilitasyondan sonra desteksiz yürüyebilmektedir (31). Brown sequard sendromunun prognozu yaralanmanın nedenine ve omuriliğin hasar görme derecesine bağlı olarak değişmektedir. Brown sequard sendromu omurilik yaralanması olduğundan iyileşme potansiyeli güçlüdür. Hastaların yarısından fazlası iyileşmektedir ve travma sonrası hastaların çoğu motor fonksiyonlarını geri kazanmaktadır. Nörolojik iyileşme iki yıla kadar sürebilmektedir (32).



Şekil 9. Brown-sequard sendromu.

#### 2.4.2.3. Anterior kord sendromu

Anterior kord sendromu genellikle MS' in ön 2/3 ünü etkileyen karakteristik olarak lezyon seviyesinin altında motor paralizi, ağrı ve sıcaklık kaybıyla sonuçlanan bir sendromdur. Anterior kord sendromuna MS' in ön 2/3 ünü besleyen anterior spinal arterdeki iskemi neden olmaktadır. MS' in posterioru korunduğu için dokunma, iki nokta ayırımı ve vibrasyon duyusu korunmaktadır (33). Anterior kord sendromunda önemli prognostik faktörler ilk semptomların şiddeti ve ilk 24 saat içindeki iyileşme miktarıdır. Semptomların daha şiddetli ortaya çıkması ve ilk 24 saat içinde belirgin bir iyileşmenin olmaması, çok daha kötü bir prognoza yol açmaktadır. Çalışmalar daha hafif vakalarda nörolojik fonksiyonda iyileşme ile olumlu sonuçların mümkün olduğunu ve az sayıda hastanın tam yürüme kabiliyetini geri kazandığını göstermiştir (34,35).



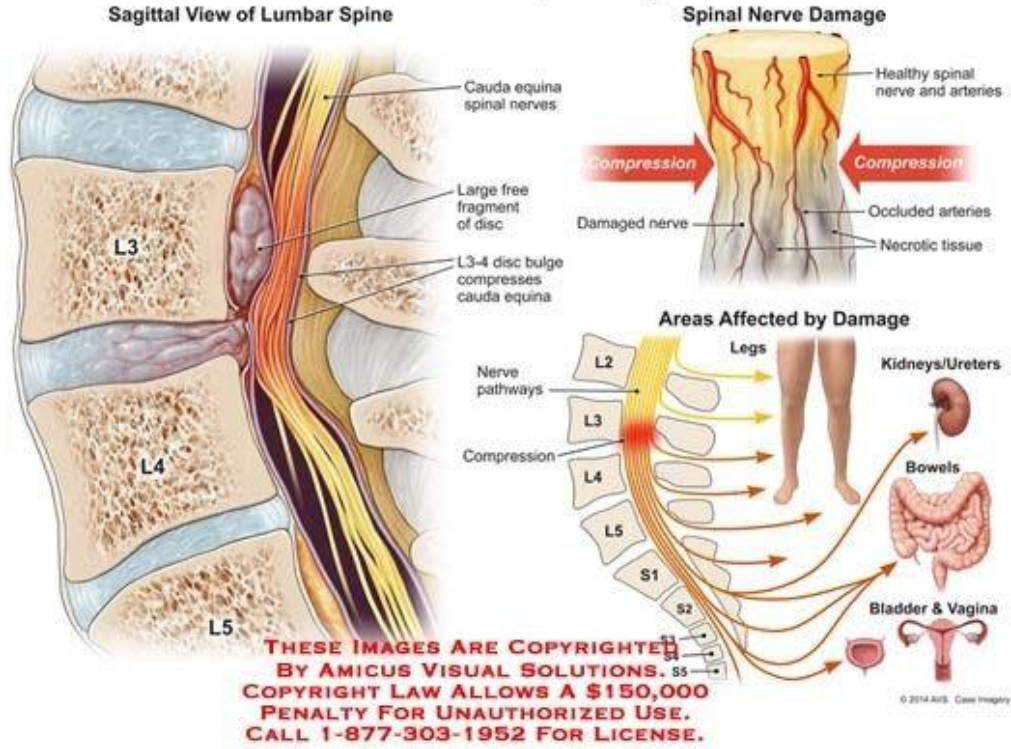
Şekil 10. Anterior kord sendromu.

#### 2.4.2.4. Kauda equina sendromu

Kauda equina L2-L5, S1-S5 MS sinirleri ve koksigeal sinirleri oluşturmaktadır. Kauda equina sendromu ise kauda equinaya baskı sonucu oluşan nadir görülen nörolojik bir hastalıktır. Alt motor nöron etkilenmesi ile flassid paralizi, arefleks mesane, bağırsak ve duyuusal etkilenme görülmektedir. Sakral refleks ve anal refleks kaybı bulunmaktadır (36).

İlginç ve tehlikeli bir kauda equina sendromu da L4-L5 veya L5-S1' de gelişen akut santral disk hernisi sonucunda oluşur ve dural kesenin merkezinde yer alan sakral kçklerin hasarına neden olur. Lomber köklerin, özellikle S1' de olduğu gibi, parsiyel olarak korunması söz konusu olabilir. Öyleyse bu hastalarda bacakta motor güç tam olarak korunurken, perineal anestezi, mesane ve barsakta total paralizi görülür. Sakral kökler çok hassastır ve bazen etkili dekompresyona rağmen hiç düzelmez (37).

## Effects of Cauda Equina Syndrome



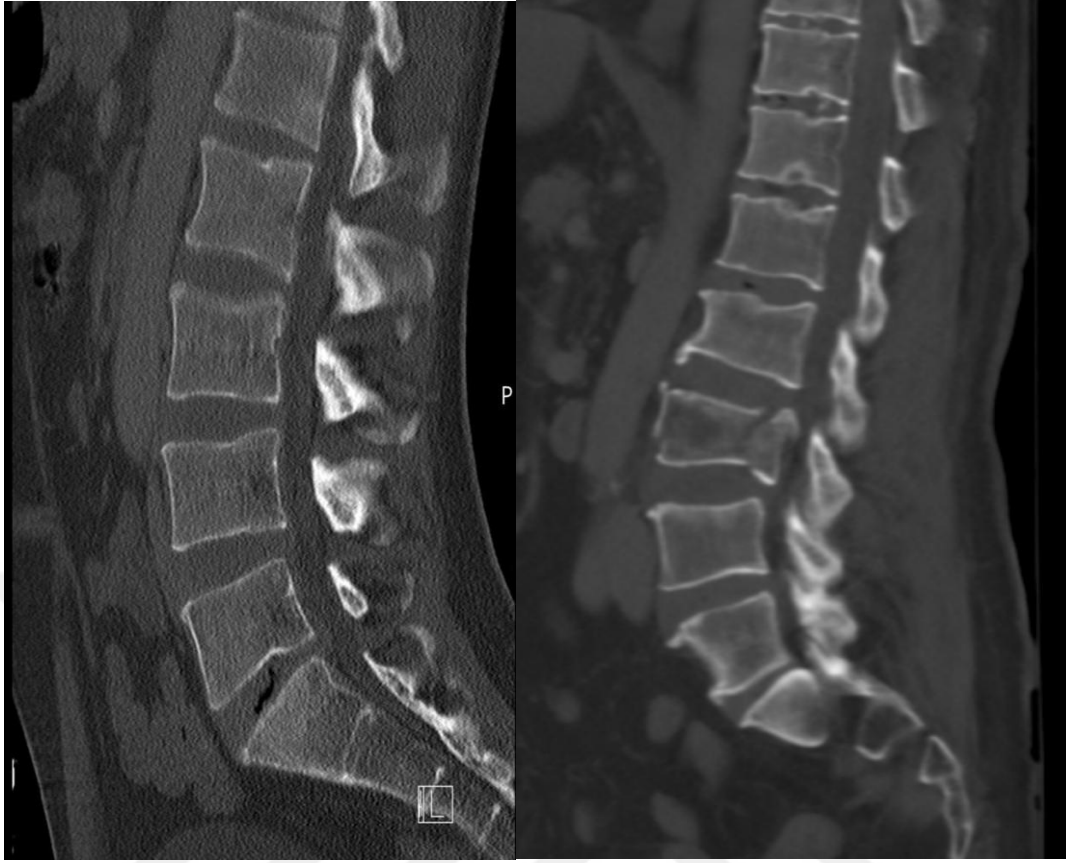
Şekil 11. KaudaEquina Sendromu.

### 2.4.2.5. Konus medullaris

Konus medullaris genellikle L1 düzeyinde yerleşmektedir. Konus medullaris sendromu ise MS' in alt sakral segmentlerini etkileyen bir hastalıktır. Konus medullaris sendromunun semptomları bağırsak, mesane ve cinsel disfonksiyon, perianal uyuşma ve alt extremité motor zayıflığını içermektedir. Kauda equina sendromuna göre daha sık simetrik tutulum gözlenmektedir (38).

### 2.5 Akut Omurilik Yaralanmasında Tanı

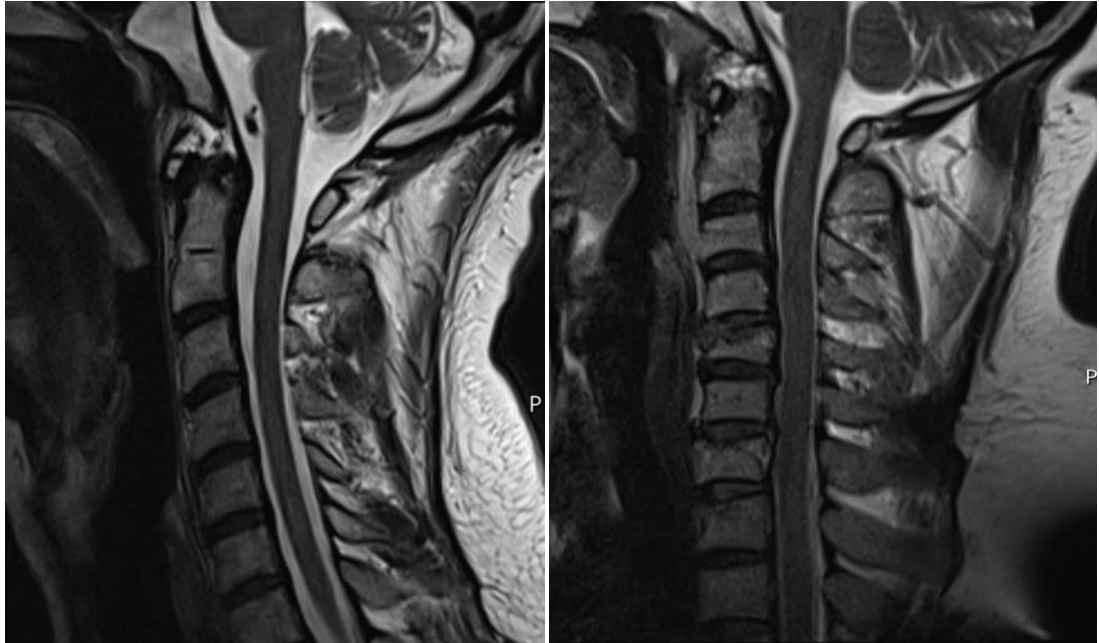
AOY şüphesi olan hastalarda servikal immobilizasyon sağlanarak sırt tahtaları ile transport sağlanmalıdır. Olası spinal yaralanma durumundaki hastalarda klinisyenin birincil sorumluluğu fiziki muayenelerle duysal ve motor fonksiyonu değerlendirmektir. Fizik muayene sonrasında AOY şüphesi veya travması olan vakalarda tanı ve lezyon seviyesinin tespiti için radyolojik görüntülemeler yapılmaktadır. Radyolojik görüntüleme ilk aşama direk grafilerdir. Direk grafide patoloji saptanan hastalarda bölgeleri detaylı olarak tarama amacıyla bilgisayarlı tomografi (BT) çekilmelidir.



A

B

Şekil 12. A- Normal Lomber BT, B- 3. Lomber Vertebra da kırık olan BT



A

B

Şekil 13. A-Normal Servikal MR, B-5. Ve 7. Vertebra da kırık olan MR

Bilinci kapalı hastalarda tüm MS özellikle taranmalıdır. Kemik patolojileri en iyi BT ile gösterilmektedir. Ligament hasarı, disk hernisi, hematoma ve nöronal hasarlanma gibi yumuşak doku hasarlarını incelemek için manyetik rezonans (MRG) çekilmelidir.

## **2.6. Akut Omurilik Yaralanması Patofizyolojisi**

AOY' nin patofizyolojisi en iyi bifazik yaralanma olarak tanımlanmaktadır. Bifazik yaralanma birincil ve ikincil olarak iki mekanizma ile ortaya çıkmaktadır. Birincil yaralanma mekanik darbenin etkisi ile ortaya çıkan yaralanmadır. İkincil yaralanma ise birincil yaralanmaya bağlı sekonder gelişen nekroz ve apoptoza bağlıdır (39).

### **2.6.1 Birincil yaralanma**

Birincil yaralanma kemik, intervertebral disk ve kompresyonun MS'de oluşturduğu mekanik hasar olarak tanımlanmaktadır(40)Kontüzyon hemoraji patlama kırıkları ve dislokasyonlar gibi travma anında oluşan hasarlardır. Bu hasarlar zamanla MS de gelişen biyokimyasal ve histopatolojik olaylar zinciriyle MS' in daha fazla zarar görmesi nedeniyle hücre ölümünün devam etmesine neden olmaktadır (40). Primer hasarın tedavisi olmaması nedeniyle tüm çalışmalar sekonder hasarı azaltmak için yapılmaktadır. MS yaralanmasına neden olan mekanik kuvvetin MS tarafından absorpsiyonu birincil yaralanmanın derecesini belirlemektedir. MS' e basının uzun sürmesi sekonder hasarı artırarak prognozu kötüleştirmektedir (41,42).

### **2.6.2 İkincil yaralanma**

Sekonder hasar spinal kordun primer hasar sonrası meydana gelen fizyopatolojik olaylar sonucunda meydana gelmektedir. Bu olaylar multisistemik bileşenleri olan ve hücrede esas yıkımı gerçekleştiren patolojik, metabolik, ödematöz, eflamatuar ve apoptotik süreçtir. Sekonder hasar primer hasardan sonra günler ve haftalar boyunca devam edebilmektedir. AOY' nda tedavide temel prensip ikincil hasarın gelişimini önlemeye çalışmaktır (41,43).

**Tablo 4. İkincil Hasar Mekanizmaları.**

<b>İkincil Hasar Mekanizmaları</b>	
<b>Sistemik Etkiler</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi</li><li>➤ Kan basıncında kısa süreli artış, sonra uzun süreli hipotansiyon</li><li>➤ Periferik dirençte azalma, Kardiyak debide azalma</li></ul>
<b>Omurilik Dolaşımında Lokal Vasküler Etkiler</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma</li><li>➤ Özellikle gri cevherde hemoraji</li><li>➤ Mikrodolaşımda kayıp-mekanik, tromboz, vazospazm</li></ul>
<b>Elektrolit Kaymaları</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ İntasellüler kalsiyumda artış</li><li>➤ Ekstrasellüler potasyumda artış</li><li>➤ İntasellüler sodyumda artış</li></ul>
<b>Biyokimyasal Değişiklikler</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Eksitotoksitite-glutamat</li><li>➤ Nörotransmitter birikimi</li><li>➤ Ketakolaminler-noradrenalin, dopamin</li><li>➤ Araşidonik asit salınması</li><li>➤ Serbest radikal üretimi, Lipid peroksidasyonu</li><li>➤ Eikosonoid üretimi, Prostaglandinler</li><li>➤ Endojen opioidler, Sitokinler</li></ul>
<b>Enflamasyon</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Serbest Radikal üretimi</li><li>➤ Makrofajlar</li><li>➤ Aksonal yıkım, Miyelin artıklarının salınımı</li><li>➤ Sitokinlerin salınması</li><li>➤ Glial hücre aktivasyonu</li><li>➤ Oligodendritsitlerde sitotoksik etkiler</li><li>➤ Wallerian dejenerasyon</li></ul>
<b>Ödem</b>	
<b>Apoptozis</b>	
<b>Enerji metabolizmasında kayıp</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ ATP Üretiminde azalma</li></ul>

#### 2.6.2.1 Sistemik etkiler

AOY medulla spinalis ile beraber birçok sistemi etkileyen sonuçlar doğurmaktadır. AOY' na yol açan travma şiddeti ve yaralanma seviyesi ile bağlantılı olarak kardiyovasküler ve hemodinamik etkilere yol açmaktadır. Bu etkiler solunum yetmezliği ve nörojenik şok olarak görülebilmektedir. Nörojenik şok AOY'nın devamında MS hasarına bağlı olarak sempatik tonus kaybına ve vagal tonus baskınlığına bağlı gelişen vazomotor yetmezlik sonucu yetersiz doku perfüzyonudur. AOY' nin erken döneminde hipotansiyon görülmesi nedeniyle doku perfüzyonunu sağlamak için taşikardi gelişmektedir fakat ilk iki saat içerisinde bu durum devam ettirilemediği için spinal ve hipovolemik şok neticesinde ortalama arter basıncı ve kardiyak output azalmasına bağlı olarak bradikardi ve hipotansiyon gelişmektedir. AOY' nin hemen ardında substansia albada kan akımının fazla olması sonucu vasküler konjesyon ve ödem görülmektedir. Artan interstisiyel basınç neticesinde de MS'de perfüzyon azalarak iskemi gelişmektedir. Gelişen iskemi neticesinde dokulardaki karbondioksit basıncı artmakta iskemi derinleşerek enfarktlara neden olmaktadır (42,44,45).

#### 2.6.2.2 Lokal vasküler etkiler

AOY sonrası MS' de hem kranial hem de kaudal kısımlarda kan dolaşımının durduğu gösterilmiştir. Kan dolaşımının durması sonucunda lokal vasküler etkiler substansia griseada daha belirgin olmak üzere substansia albada da görülmektedir. MS'deki yaralanmaların küçük damarlarda da mekanik hasara yol açarak sekonder hasara yol açtığı gösterilmiştir (46). MS' de kan basıncının değişikliklerine karşı kan akımını sabit tutan otoregülasyon mekanizmasının akut AOY sonrası bozulması da ikincil hasarı arttırmaktadır. Kan basıncı ve kan akımının azalması substansia grisea da daha fazla olmak üzere substansia albada da hipoperfüzyona yol açmaktadır. Bu hipoperfüzyon sonucunda vasküler otoregülasyon mekanizmaları daha da bozulmaktadır, azalan vasküler otoregülasyon sonucu doku perfüzyonu da azalmasıyla doku üzerine toksik etkileri olan metabolik artıklar birikmeye başlamaktadır. Doku perfüzyonuna yarar sağlamak için sistemik kan basıncının artırılması bile perfüzyona fayda sağlayamamakta aksine hiperemi ve ödem gelişimini de arttırmaktadır. Mekanik hasar ve vazoaktif maddelerin salınımına bağlı gelişen vazospazm, endotel hasarı ve hücrel şişme, kanama, tromboz, trombosit

agregasyonu ve ortama salınan hücre içi sitotoksik özellikler taşıyan maddeler salınımı posttravmatik iskeminin artmasına neden olmaktadır (46–48).

#### 2.6.2.3 Elektrolit kaymaları

Akut omurilik yaralanmalarında sıvı elektrolit bozuklukları önemli bir role sahiptir. Travmayı takiben nörepinefrin artışına bağlı MS'deki kan akımı azalmaktadır. Ayrıca sodyum, potasyum, kalsiyum gibi iyonların yer değişimi, lizozom, fosfolipaz ve proteaz gibi yıkıcı enzimlerin aktivasyonu, opioit reseptörlerinin aktivasyonu, tromboksan, prostoglandin ve eksitator maddelerin sentezlenmesi gibi olayların sürecine katkıda bulunmaktadır. Hücre içi sodyum hücre dışı potasyum konsantrasyonlarında meydana gelen değişikliklerin hücresel iletiyi durdurduğu gösterilmektedir. Hücre hasarının mekanizmasında kalsiyum iyonunun rolü fazladır. Sağlıklı bireyde hücre dışındaki kalsiyum konsantrasyonu hücre içine oranla kat kat yüksekken AOY sonrası kalsiyum iyonu hasar görmüş hücre membranı vasıtasıyla voltaj bağımlı kalsiyum kanalları ve glutamatın aktiflediği iyon kanalları vasıtasıyla hücre içine girmeye başlamaktadır. Bu yollarla hücre içine giren kalsiyum, proteaz, fosfolipaz, nükleaz gibi proteolitik enzimleri aktifleyerek nörotoksisiteye yol açmaktadır. Oluşan nörotoksisite sonucuyla hücre hasar başlamaktadır. Hücre hasarın başlamasıyla hücre membranındaki lipitler parçalanarak araşidonik asit ve yağ asitlerini serbestleştirmektedir. Serbestlenen moleküller siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolağı ile prostoglandin ve lökotrienlere çevrilmektedir. Ayrıca kalsiyum iyonu hücrede mitokondrideki elektron transport zincirini de bozarak serbest oksijen radikallerini ortaya çıkarmaktadır. Ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri de hücre hasarının ilerlemesine neden olmaktadır(49,50).

#### 2.6.2.4 Biyokimyasal değişiklikler

Serbest oksijen radikalleri (SOR) dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulunduran yapılardır. Eşlenmemiş elektron başka biyolojik moleküllere aktarılarak oksidasyona yol açmaktadır. SOR' ların aşırı artışı hücre ölümüne neden olmaktadır. Sağlıklı hücrelerde oluşan antioksidan bileşikler SOR' un yaptığı zararlı etkileri kontrol edebilirken AOY gibi durumlarda aşırı SOR üretimi antioksidan kapasitesini aşmaktadır. SOR arasında süperoksit radikal ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), organik perhidroksi radikali ( $HO_2$ ), hidroksil radikal ( $OH^\cdot$ ) ve organik peroksi ( $ROO^\cdot$ ) radikalleri yer almaktadır. Hücrede elektron transferi yeterli olması durumunda SOR

molekülleri süperoksit dismutaz ile hidrojen peroksit, hidrojen peroksit hidrojen peroksitte katalaz enzimi ile su (H<sub>2</sub>O) ve oksijen (O<sub>2</sub>) e çevrilir. Bu dönüşüm sayesinde moleküllerin toksik etkilerinden korunmuş olunmaktadır. AOY sonrası ortamda hemoglobin, ferritin ve transferrin gibi moleküllerin demir içeriği açığa çıkmaktadır. Vücutta demir (Fe<sup>+2</sup>) katalizörler mevcutsa hidrojen peroksit hidroksile dönüşmektedir. AOY sonrası açığa çıkan demir nedeniyle de katalizlenen fosfolipit peroksidasyon reaksiyonları sonucunda hücre membranı parçalanarak kan beyin bariyeri bozulmaktadır. Bu durum SOR birikimine neden olarak ikincil hasarın daha da artmasına yol açmaktadır (51).

Lipit, nükleik asit, karbonhidrat veya protein gibi biyolojik moleküllere okside edici bir radikalın etki etmesi ile karbon merkezli radikaller oluşmaktadır ve O<sub>2</sub> ile birleşerek ROO<sup>-</sup> radikalini oluşturmaktadır. Oluşan bu radikal lipit peroksidasyonunun oluşmasına vesile olmaktadır (51).

SOR hücreyi oluşturan tüm bileşenlerle reaksiyona girebilirler fakat lipitler SOR ile etkileşime en hassas yapılardır. Yüksek oranda poliansatüre yağ asitleri içeren hücre membranının yıkılması SOR' a bağlı nöronal hasar oluşmasının en önemli aşamasıdır (52).

Glutamatın motor aktivite, duyuşal iletimin devam ettirilmesi, hafıza işlevleri ve spinal reflekslerin düzenlenmesinde görevi olduğu düşünölmektedir. Aspartatın ise omurilik nöronlarının ara nöronlarında iletim fonksiyonunda görevli olduğu ve reflekslerin düzenlenmesinde işlevi olduğu düşünölmektedir (53). Travma sonrası glutamat düzeyi artmakta ve  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit (AMPA) reseptörleri aktif olduğu zaman N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri de aktive olmaktadır. Bu aktivasyon sonrası hücre içi kalsiyum düzeyi artmaktadır. Ayrıca Na-K-ATPaz bozukluğu sonucu ödem gelişimi ve ekstrasellöler potasyum kaybı eşlik etmektedir. Hüresel yıkım mekanizmaları da etkinleşerek hücre hasarına ve nöron kaybına neden olmaktadır (54).

#### 2.6.2.5 Enflamasyon

Enflamasyon canlı dokunun yaralanmaya karşı oluşturduğu ortak bir neticedir. Yaralanma bölgesindeki vasköler nörolojik hüresel ve humoral yanıtları birlikte içermektedir. AOY'nı takiben enflamasyon cevabı çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Enflamasyon cevabında endotel hasarı ve enflamasyona yol açan

bradikinin, prostoglandin, lökötrienler, nitrik oksit (NO) gibi mediatör ve tümör nekrozis faktörü (TNF- $\alpha$ ), interlökin-1 beta, 6 gibi sitokinlerin salınımı damar geçirgenliğinin artışı ile ödem gelişimi, enflamasyonda rol alan hücrelerin olay bölgesine göçü ve mikroglial hücrelerin aktivasyonu görülmektedir. İnterlökin-1 beta enflamasyon için kuvvetli bir uyarıcıdır. AOY' nin olduğu bölgede posttravmatik 1. Saatte görüldüğü ve posttravmatik 72. Saate dahi yüksek seyrettiği görülmektedir. İnterlökin-10 ise antiinflamatuvar bir sitokin olup monosit ve immün sistem üzerine inhibitör etkili bir sitokindir. İnterlökin-10 TNF üretimini azaltarak nöroprotektif ve motor fonksiyonu iyileştirici etkiye sahiptir (55).

Polimorfonükleer granülositler lezyon bölgesine AOY' yi takiben ilk birkaç saat içerisinde göç etmeye başlamaktadır. Göç eden hücre miktarı ortamdaki hemoraji miktarı ile ilişkili olmaktadır. Bu göç esnasında erken fazda en baskın hücreler nötrofiller olarak görülmektedir. Travma sonrası nötrofil göçü en yüksek seviyeye ulaşır ve 3. Günde kaybolmaktadır. Bu göçte litik enzimler ile vasküler, nöronal ve glial dokularda daha çok hasar oluşmaktadır. Ardından periferden monosit ve makrofaj ile mikroglial hücreler travma bölgesine göç etmektedir. Bu göçler neticesinde enflamasyonu takiben demiyelinizasyon gerçekleşmektedir (55).

#### 2.6.2.6 Apoptoz

Apoptoz Yunanca bir kelime olup ağaçtan düşen yapraklar olarak betimlenmiştir. Apoptoz embriyonal ve fetal gelişimde dejenerasyon ve tamir olaylarında, hücre sel homeostazın sağlanmasında, tümör regülasyonunda, viral hastalıklarda ve hormonal farklılıklara bağlı organ regülasyonunda önemlidir. Apoptoz sonuç olarak hücrelerin bir süreç dahilinde ve programlanmış bir şekilde hücre ölümü olarak tanımlanan bir süreçtir. Erişkin bir bireyde günde 50-70 milyon hücre apoptoza uğramaktadır (56).

İnsanlarda AOY sonrasında apoptozisin varlığı gösterilmiştir. AOY sonrasında nöronlarda ortaya çıkan apoptoz 2 yolla olmaktadır.

- 1) Ligand fas reseptörleri ile ekstrinsek yol üzerinden (Reseptör bağımlı)
- 2) Kaspaz 3 proenzim aktivasyonu ile intrinsek yol üzerinden (Reseptör bağımsız)

AOY' de apoptozun her iki yolu da aktive olmaktadır. Reseptör bağımlı apoptozda en önemli görevli grup tümör nekrozis faktör (TNF) reseptör ailesidir.

TNF reseptör içinde apopitozu meydana getiren reseptörlerden en önemlileri fas ve tümör nekroz faktör reseptörü 1 (TNFR1) dir. Diğer reseptörleri ise DR3, DR4, DR5 ve DR6 dır. Bu reseptörler ligand fas, DR3 ligandı veya TNF-relatedapoptosis-inducing ligand (TRAIL) olarak adlandırılan ligandlarla uyarıldığında hücrenin sitoplazmasında bulunan parçalar adaptör proteinlere bağlanmaktadır. Adaptör proteinler nöronların, mikroglia ve oligodendrositlerin faz reseptör aktivasyonu birtakım programlı ardışık kaspaz aktivasyonla neden olmaktadır. Bunlar kaspaz 8 ve tetikleyici kaspazlar olarak bilinen kaspaz 3 ve kaspaz 6 dır. Bu kaspazların aktivasyonu etkilenen hücrenin ölümü ile sonuçlanmaktadır (56).

Reseptör bağımsız apopitoz yolu hücre içi sinyallerle aktive edilmektedir. Reseptör bağımsız yolun aktivasyonu, AOY sonrası nöronlarda tanımlanmış ve artan intranöral kalsiyum konsantrasyonunu mitokondriyal hasarını, sitokrom C salınımını ve alternatif programlı kaspaz aktivasyonunu teşvik ettiği düşünülmektedir. Bugüne kadar 14 tane ayrı kaspaz tespit edilmiştir. Kaspaz 2,3,6,7,8,9 ve 10 hücre ölümü ile ilişkilidir. Kaspaz 3 en yaygın ve apopitozdan asıl sorumlu olan kaspazdır (56).

## **2.7. Akut Omurilik Yaralanması Patolojisi**

AOY' nı takiben nöral dokuda ortaya çıkan patolojik değişiklikler santral hemoraji, hematomiyeleli, uzak kanamalar, santral hemorajik nekroz, posttravmatik infarkt, subaraknoid kanama, subdural ve epidural kanamalar, ödem, aksonal hasar, miyelin kılıf hasarı ve inflamasyonu olarak özetlenmektedir. Akut omurilik yaralanmalarında nöropatolojik bulgular travmayı meydana getiren etkenin şiddetine, süresine ve yaralanmadan sonra süreye bağlı olarak değişiklik göstermektedir (57).

AOY' den sonra MS' de kanama, ödem, aksonal ve nöronal nekroz, kist formasyonu ve infarktın tanıklık ettiği demiyelinizasyon gibi patolojik değişiklikler oluşmaktadır. Oluşan bu patolojik değişiklikler akut, subakut ve geç faz olarak 3 fazda incelenmektedir.

### **2.7.1 AOY' DE akut faz**

AOY' nda hasar sonrası travma mekanizmasına bağlı olarak ekstradural alan, subaraknoid boşluk ya da subdural alanda kanamalar görülmektedir. Kanamayı takiben substansia griseada mikrokanamalar, substansia albada da ödem görülmeye başlamaktadır. Posttravmatik 1. Saatte hücresel düzeyde değişiklikler

görülebilmektedir. Görülen bu değişiklikler stoplazmada eozinofili, hayalet formu kazanmış hücreler, nöronlarda küçülme, çekirdekte hiperkromatizasyon şeklinde görülmektedir. Ardından substansia griseada artan kanamalar posttravmatik 8. Saatte substansia albaya da yayılarak öncelikle ön boynuz hücrelerini etkilemektedir. Oluşan bu etkilenme posttravmatik 8-24. Saatlerde ışık mikroskopuyla görülür hale gelebilmektedir. 4. Saatte miyelin kılıf hasar görmeye başlayarak 6. Saat civarında da vazojenik ödem gelişmektedir. Hücre içi kalsiyum artışı neticesinde yıkım enzimlerinin etkinleşmesiyle nöronal ve aksonal dejenerasyon ilerleyerek 12. Saat civarında tüm hücresel yapıların morfolojisinin bozulmasına yol açmaktadır ve gelişen bu durum gri ve beyaz cevher ayrımının kaybolmasıyla sonuçlanmaktadır. Gri ve beyaz cevherin ayrımının kaybolmasıyla oluşan dejenerasyon zonu rostralden kaudale doğru genişlemeye devam etmektedir. Bu genişlemeyi takiben ortama göç etmeye başlayan nötrofiller lezyon alanı ile komşu sağlam doku etrafında toplanarak enflamatuvar süreci hızlandırmaya başlamaktadır. Bu süreci takiben posttravmatik 6. Günde nekrozun ileri derecede ilerleyerek otodekstrüksiyonu gerçekleştirdiği izlenmektedir. Devamında hemorajik alanda başlayan kavitasyon sonucunda oluşan enfarkt durumu posttravmatik enfarkt denilen durumu meydana getirmektedir (58).

### **2.7.2 Subakut faz**

AOY sonrasında mikroglia ve astrositler aktiflenerek reaktif gliozis oluşturmaya başlamaktadır. Mikroglia nöronal dejenerasyon varlığında kimyasal sinyaller altında sitotoksik makrofajlara dönüşmektedir. Bu hücreler lezyon merkezinde çalışmaktadırlar ve nadiren yayılmaktadır. Sağlam ya da az miktarda yaralanmış hücreleri öldürüp öldürmediği henüz anlaşılamamıştır. Travmaya cevap olarak astrositler hipertrofi ve proliferasyon göstermektedir. Reaktif astrositler birinci hafta itibariyle lezyon kenarında birikmeye başlamaktadır. Astrosit yanıtı 14. Günde maksimum seviyeye ulaşırken 28. Güne kadar ortaya çıkmaktadır. Yaralanmış kan beyin bariyeri (KBB) ne bağlı ödem oluşumu hasardan sonra erken saatlerde başlamaktadır, radyal ve longitudinal olarak ilerlemektedir, ilk 24 saatte belirginleşmektedir. Hidrostatik veya filtrasyona bağlı olarak ödem 8. Güne kadar sürmektedir. Ödem pia elastisitesi olmadığı için vasküler direncin artmasına bundan dolayı da medulla spinalisde kan akımının azalmasına neden olmaktadır. İnflamatuvar hücrelerin MS' in hasarlı dokusuna göçünde 2 evre bulunmaktadır. 1. Evrede

polimorfonükleer granüositler hasardan saatler sonra travma bölgesine gelerek sitotoksik etkileriyle nörofaji yapabilmektedirler. Bu etki 24. Saatte maksimuma ulaşarak 3. Günde kaybolmaktadır. 2. Evrede travma bölgesine monosit ve makrofajlar gelerek hücre debrisini fagosite etmektedir. Schwann hücreleri, meningeal hücreler ve fibroblastlar travma bölgesine göç eden diğer periferik hücrelerdir. Schwann hücrelerinin hasarlı akson miyelinini onararak ve nörotrofik faktörleri salgılayarak aksonal rejenerasyonla görev aldıkları gösterilmiştir. Meningeal hücrelerin görevleri tam olarak bilinmemekle birlikte glial limitansı kurmak olabilmektedir (58). Fibroblastlar meninks kaynaklı olabilir. Travma sonrası bazik fibroblast, büyüme faktörü salınımının daha çok artması fibroblast proliferasyonu ve neoanjiogenez ile alakalı olabilir (59,60).

### **2.7.2 Geç faz**

AOY' de geç faz travmayı takip eden 6 ay ve sonrasında meydana gelen değişiklikleri kapsamaktadır. Bu 6 aylık zaman sonrasında travma bölgesinde dura ve araknoid membranın kalınlaştığı, meningeal zarın duraya yapışıklık gösterdiği izlenmektedir. Fibrozisin geliştiği MS makroskopik olarak gri ve sert kıvamda olup büzülerek küçülmektedir. Meydana gelen eski kanamalar nedeniyle kahverengi-gri renk değişimi izlenebilmektedir (61). Kronik dönemde AOY' den 8 hafta sonra travmanın olduğu bölgede içi sıvı dolu kistler oluşmaktadır. Kist oluşumu nekroz, onarım ve stabilizasyon evlerinden oluşmaktadır. Kistik oluşumların sebebi olarak makrofajların travmadan sonra oluşan nekrotik dokuları abserbe etmesi olarak görülmüştür (62).

Geç fazın önemli bir komponenti de miyelin kaybı olmasıdır. Demiyelinizasyon ilk 24. saatte başlamaktadır, 2. Haftada maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Demiyelinizasyonun etrafında ince bir korunmuş doku tabakası bulunmaktadır ve gri renkli sert kıvamdadır. Kavitasyon ise travma merkezine rostral ve kaudal yerleşimlidir (61).

Skar dokusu oluşumunun yanı sıra geç fazda hayatta kalabilmiş bazı nöronlarda aksonal rejenerasyon schwann hücrelerinde ise remiyelinizasyon görülebilmektedir (63).

## 2.8 Deneysel Akut Omurilik Yaralanması Modelleri

AOY' nin tamamına yakınında primer yaralanma, omurgadaki fraktürler veya fraktür-dislokasyonlar neticesinde MS' in akut basısı veya laserasyonu ile gelişmektedir (47). MS' e yönelen kuvvet minimum iki yönlü olmakla beraber değişik hareketlerin sonucunda gelişmektedir. Travmaya neden olan kuvvet çoğu kez fleksiyon, ekstansiyon, kompresyon ve rotasyon hareketlerinin farklı kombinasyonlarından meydana gelmektedir (64).

Hem birincil hem de ikincil yaralanma için deneysel model geliştirme çalışmaları 20. Yüzyılın başına dayanmaktadır. Yapılan deneysel AOY modelleri oluşturmak için spinal kord üzerine ağırlık düşürme, kompresif balon, ventral kompresyon tekniği, kontrollü kontüzyon, omurilik iskemisi modeli, radyofrekans akımla segmental omurilik yaralanması, kompresif klips uygulama gibi travma modelleri uygulanmıştır. Güncel kullanımı olan modeller ise yüksekte ağırlık düşürme ve klips kompresyon ile MS yaralanmasıdır (65,66).

İnsanlarda AOY çok fazla değişken içerirken deneysel travma modellerinde yaş, seks gibi değişkenleri kontrol altında tutmak mümkün olduğundan iki yaralanma arasında farklılıklar bulunmaktadır. İnsanlarda omurilik yaralanmaları farklı kuvvetlerin kombinasyonu ile oluşurken deneysel modellerde uygulanan kuvvet genellikle tek yönlü ve kompresyon tarzındadır. İnsan omurilik yaralanması ile deneysel modellerdeki yaralanma arasında diğer bir farklılık ise insanlarda MS yaralanması kapalı vertebral sistem içerisinde gerçekleşirken deneysel modellerde çoğunlukla açık laminektomi sonrası yaralanma oluşturulmaktadır (67).

Deneysel omurilik yaralanması modelleri arasında da oluşturulan hasar yönünden farklılıklar görülebilmektedir. Khan ve Griebel, ratlarda deneysel spinal kord yaralanma tekniklerini karşılaştırmışlardır. Karşılaştırma sonucunda ağırlık düşürme yönteminde MS hasarının yüksek oranda mekanik sebeple oluştuğu fakat balon kompresyon ile klips kompresyon modellerinde hem mekanik hem de vasküler faktörlerin devreye girdiğini bildirmişlerdir (68).

Bu çalışmada spinal kord travması oluşturmak amacıyla klip ile kompresyon yöntemi kullanılmıştır. 24 g gücünde Yaşargil anevrizma klipi laminektomi ardından spinal kordun ekstradural kompresyonu amacıyla 1 dakika kapalı tutularak travma oluşturulmuştur.

## **2.9 Akut Omurilik Yaralanmasında Tedavi**

AOY' nda tedavinin ana amacı oluşacak olan ikincil hasarı engellemektir. Hem cerrahi hem de medikal tedavi ile travmatize olmuş MS koruyucu nöroprotektif ajanların kullanılması bilinen tedavi yöntemleridir. AOY' nin ardından tek ya da etkilerini potansiyelize edip edemediklerini belirlemek amacıyla kombine şekilde deneysel çalışmalarda denenmiştir (69).

Günümüzdeki tedavi yaklaşımları ise travmatize olmuş MS' deki öncelikle aksonların yeniden görevlerini yapabileceği rejenerasyon çalışmalarıdır. Ayrıca kafa travması kardiyak arrest ve serebral iskemide kullanılan hipotermide güncel tedavi yöntemleri arasında yerini almıştır (70).

### **2.9.1 Akut Omurilik Yaralanmasında Cerrahi Tedavi**

AOY' de cerrahi müdahalenin ne zaman yapılması konusunda tartışma halen devam etmektedir. Cerrahların birçoğu erken cerrahi müdahaleyi savunuyor olsa da erken müdahalenin nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeye faydası olabileceği konusunda bulunmuş kesin bir kanıt yoktur. Yine de acil olarak yapılacak dekompresyon ameliyatının daha sonradan gelişebilecek olası nörolojik hasarları önleme konusunda yararlı olabileceği konusunda öneriler mevcuttur. Travma sonrası yapılacak olan erken dekompresyon ameliyatıyla MS üzerindeki basının azalması ve stabilizasyon ile MS' in anatomik pozisyonunun düzelmesi ile sekonder hasarın şiddetinin azalması sağlanabilmektedir (71,72).

### **2.9.2 Akut Omurilik Yaralanmasında Medikal Tedavi**

AOY' de yapılan çalışmalarda birçok farmakolojik ajan denenmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda bazı ilaçların etkinliği gösterilse de klinik kullanıma girememişlerdir. Güncel kullanımı olan ilaçlar metil prednizolon birinci sırada olmak üzere gangliozitler, opiat reseptör antagonistleri ve nimodipin insanlarda ilaç ruhsatlandırma çalışmalarını tamamlamış, onay almış ve kullanımı olan ilaçlardır(73). AOY' de güncel kullanımı olan bu ilaçlar ile primer hasardan ziyade sekonder hasarın gelişimi önlemeye çalışılmaktadır (74).

#### **2.9.2.1 Metil Prednizolon**

Sekonder hasarın önemli mediyatörlerinden biri oksijen radikallerince indüklenen lipid peroksidasyonudur. Metil prednizolon ise antiinflamatuvar, lipid

peroksidasyonu inhibisyonu, sitokin oluşumu önleyici, hücreye  $Ca^{++}$  girişini engellemesi ve doku perfüzyonunu artırıcı etkisi bulunmaktadır(75). Metil prednizolon bu etkiyi membrandaki Na-K-ATPaz enzimini koruyarak lipid peroksidasyonuna bağlı membran harabiyetini engelleyerek yapmaktadır(76,77). Metil prednizolon sentetik bir glukokortikoiddir ve uzun senelerdir beyin ödemi ve MS yaralanmasında kullanılmaktadır. Metil prednizolonun bu etkileri prospektif, randomize, çift kör ve çok merkezli klinik çalışmalar olan NASCIS (National 27 Acute Spinal Cord Injury Studies) ile ortaya konmuştur. NASCIS çalışmaları ile genel kabul gören tedavi protokolü metil prednizolonun 30 mg/kg bolus şekilde 60 dakika içerisinde verilmesi ve devamında 5.4 mg/kg 23 saat idame olarak devam ettirilmesidir (21).

#### 2.9.2.2 Magnezyum

Magnezyum sülfat ( $MgSO_4$ ) nöroprotektif bir ajandır.  $MgSO_4$  kontüzyon yaralanmasından sonra nöroprotektif özellik göstermiştir. Magnezyum kan spinal kord kaçışını endotelde glutamat antagonizması ile önleyebilmektedir. NMDA reseptör blokajı ile nöral yapılarda glutamat toksisitesini önlemektedir. Magnezyumun lipid peroksidasyon yan ürünlerine glutamat antagonizmasından kaynaklanan indirek etkisiyle azalttığına inanılmaktadır. Magnezyum AOY' den sonra serbest radikal ve glutamatın vasküler yapıda hasarının yönlendirilmesinde anahtar rol oynamaktadır. Serbest radikal düzenlenmesini azaltarak nöral yapılarda vazoproteksiyon sağlamaktadır. Magnezyum eksikliği endotel hücrelerinde serbest radikal kaynaklı intrasellüler oksidasyon ve sitotoksositeye neden olmaktadır (78).

#### 2.9.2.3 Naloksan

Naloksan opiat antagonisti bir ilaçtır. AOY' nı önlemede etkin olduğu NASCIS2 çalışmalarında gösterilmiştir. Opiat reseptör antagonistlerinin nörolojik travma üzerindeki olumlu etkilerine spinal kord kan akımını artırarak yaptığı bilinmektedir (79).Naloksanın tedavi dozu 5.4mg/kg yükleme sonrası 24 saat boyunca 4 mg/kg idame olarak denenmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (80).

#### 2.9.2.4 Gangliozitler

Gangliozit glikoz sfingolipit yapıda bir ajandır. En iyi bilineni monosialotetraheksosilgangliozitdir. Deneysel çalışmalarda antiapoptotik ve nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (40).

#### 2.9.2.5 Na-K-Ca Kanal blokörleri

Travma sonrasında hücre içerisinde  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{++}$  artışı görülmektedir. Bu artışın sekonder hasar dahil birçok patolojiye sebep olduğu bilinmektedir. Bu patolojilerden dolayı kanal blokörü ajanlar omurilik yaralanmasının tedavisi araştırmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bir  $\text{Na}^+$  kanal blokörü olan tetradotoksi kullanıldığında posttravmatik sekiz hafta sonrasında beyaz cevherdeki hasarı ve akson kaybını azalttığı bu durumun neticesinde de nörolojik defisitlerde iyileşme görülmüştür (81).

Riluzol benzodiazepin sınıfı bir antikonvülzan olup ek olarak kalsiyum kanallarını bloke ederek hücre içi  $\text{Ca}^{++}$  düzeyinin artışını önlediği ve bunun neticesinde glutamat ekzotoksitesini önleyerek nöroprotektif etki gösterdiği görülmüştür. Riluzol asıl olarak ise amyotrofik lateral skleroz tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada servikal kord yaralanması olan 36 hastada 50 mg/gün oral doz riluzol ile 14 günlük tedavi sonucunda motor aktivitelerinde anlamlı olarak düzelme olduğu görülmüştür (74).

Yaralanma ve iskemi sonrasında hücre membranı hasarı gelişmesini takiben hücre içine kalsiyum girişi olmaktadır. Bu kalsiyum girişine kalsiyum kanallarının açılması da eşlik etmektedir. Bunun sonucunda artan hücre içi kalsiyum düzeyi hücre hasarına yol açan enzimlerin aktifleşmesine ve vasküler düz kas hücrelerinde vazospazma yol açarak iskeminin daha da derinleşmesine neden olmaktadır (82).

Travma sonrası nöronlarda potasyum kanallarının açılması ile hücre dışına potasyum çıkışı olmaktadır. Hücre dışına çıkan potasyum nöronların depolarizasyonuna neden olmaktadır. Bu depolarizasyon sonucu miyelin kaybına ve nöronal iletimin bloke olmasına neden olmaktadır. 4-aminopiridin ile hücre içine  $\text{K}^+$  girişinin azaldığı ve sonucunda inkomplet yaralanmalarda kronik fazda fonksiyonel sonuçlarda iyileşme olduğu gösterilmiştir (82).

#### 2.9.2.6 Eritropoetin

Eritropoetin (EPO) ve deriveleri santral sinir sisteminde bulunan ve nöroprotektif etkileri olan endojen mediyatörlerdir. EPO' nun etkilerine bakıldığında hücreleri iskemi ve reperfüzyon hasarından koruduğu, antiapoptotik etkileri olduğu, hücre eksitabilitesini düzenlediği ve travma sonrasında rejenerasyona olumlu yönde etkilerinin olduğu gösterilmiştir. EPO' nun ayrıca sinir sistemi gelişiminde önemli

işlevleri olduğu bildirilmiştir (83).

#### 2.9.2.7 Tosilizumab

##### 2.9.2.7.1 IL-6 ve tosilizumab

IL-6 bir sitokin olup proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtının ortaya çıkmasında rol almaktadırlar. IL-6 değişik dokuların büyümesini ve farklılaşmasını düzenleyen, birçok işlevi olan bir sitokindir. Hedef hücreye bağlı olarak büyümeyi uyaran ve farklılaşmayı sağlayan etkinliğe sahiptir. Sistemik inflamatuvar yanıt sırasında ortaya çıkan akut faz reaktanları arasında IL-6 inflamatuvar olaylarda mononükleer fagositlerde mikrobik uyarılara direkt yanıt olarak ve tümör nekroz faktörü ile interlökin 1 (IL-1) üretiminin sonucunda ortaya çıkan bir sitokindir. Travma nedeniyle yoğun bakım desteğine gereksinim duyan hastalarda ateş, taşikardi, hiperventilasyon ve lökositoz gibi bulguların travmaya mı ya da enfeksiyona mı bağlı olduğunu ortaya koyabilmek ve antibiyoterapi başlanacak hastaların ayırt edilebilmesi için son derece önemlidir. IL-6 akut faz cevabın asıl oluşturucusudur. IL-6 C-reaktif protein, kompleman bileşenleri, orosomukoid, haptogloblin, fibrinojen, proteaz inhibitörleri sentez etmek için hepatositleri aktive ederek sağlamaktadır (84,85).

Antiinflamatuvar etkiye ek olarak, tosilizumabın B hücrelerinin yanı sıra T hücresi fonksiyonunu da etkilediği, böylece bağışıklık fonksiyonunu modüle ettiği ve osteoklastların yanı sıra vasküler endotelyal büyüme faktörünü etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle, şu anda bir dizi vaskülit, sistemik lupus eritematozus, sistemik skleroz, polimiyozit, aşıya karşı konak hastalığı, tekrarlayan polikondrit ve ayrıca Behçet sendromu, spondiloartropatiler ve tümör nekrozu dahil olmak üzere çok sayıda otoimmün durumda etkinliği araştırılmaktadır (86).

Tosilizumab (TCZ); antiinflamatuvar etkileriyle romatoid artrit, castlemen hastalığı, juvenil romatoid artrit ve inflamatuvar barsak hastalığı üzerinde yararlı etkileri olan interlökin 6 (IL-6) reseptör agonisti olan bir monoklonal antikordur. TCZ ilk olarak 2008 de Japonya' da tanıtılmıştır. TCZ IL-6' nın reseptörlere bağlanmasını inhibe etmektedir, bu inhibisyonu yaparken interlökin 6 reseptörünün (IL-6R) hem çözünür hem de hücre membranına bağlı formları ile rekabet ederek bu sitokinin proinflamatuvar aktivitesini azaltmaktadır (84,85).

Karataş ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada TCZ kullanılmış ve TCZ' nin nöroprotektif etkileri serebral iskemi modelinde araştırılmış ve yararlı etkileri bildirilmiştir (87).

#### 2.9.2.7.2. Tosilizumab farmakokinetiği

Tosilizumabın yarılanma ömrü doza bağımlıdır ve 4 mg/kg dozunda kullanıldığında yaklaşık 11 gün ve 8 mg/kg dozunda kullanıldığında 13 gündür. IL-6 değişik CYP450 izoenzimlerini suprese etmekte; böylece IL-6' nın inhibe olması CYP450 aktivitesini artırmaktadır. Bu durum substratı CYP450 olan ve terapötik penceresi dar olan ilaçlar için (örn. siklosporin veya varfarin) klinik olarak önemlidir ve bu ilaçlar ile tedavide doz ayarlaması yapılmalıdır (88).

Tosilizumab tek başına veya nonbiyolojik hastalığı modifiye eden antiromatik ilaçlar (DMARD) ile kombine olarak kullanılmaktadır. Tedaviye 4 haftada bir intravenöz 4mg/kg ile başlanıp klinik yanıtı göre doz 8 mg/kg'a arttırılmaktadır. Ancak laboratuvar bulgularında değişiklik, karaciğer enzimlerinde yükselme, nötropeni ve trombositopeni varsa doz ayarlaması yapılmalıdır (88).

#### 2.9.2.7.3. Tosilizumab kullanılışı

Tosilizumab bir veya daha fazla TNF antagonisti ilaca yeterli yanıt vermeyen erişkin hastadaki ortadan-şiddetliye aktif romatoid artrit tedavisinde kullanılmaktadır (88).

#### 2.9.2.7.4 Tosilizumab yan etkileri

Tüberküloz, fungal, viral ve diğer oportünist infeksiyonlar dahil ciddi infeksiyonlara neden olmaktadır. Tosilizumab tedavisine başlamadan önce hastada tüberküloz taraması yapılmalıdır. En sık görülen yan etkiler üst solunum yolu infeksiyonu, baş ağrısı, hipertansiyon ve karaciğer enzimlerinin yükselmesidir. Bazen nötropeni ve trombositopeni sayısında azalma görülür ve plazma lipidleri (örn. kolesterol, trigliserid, LDL, ve HDL) takip edilmelidir. Divertiküli olan veya kortikosteroid kullanan hastada tosilizumab gastrointestinal sistemde perforasyona neden olmaktadır (88).

### 3.MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 2022 /06/04 karar numarası ile etik kurul onayı alındıktan sonra Düzce Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Hayvan Laboratuvarı'nda Ocak 2023 döneminde yapıldı. Kullanılan denekler Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden elde edildi.

Çalışmamızda yaklaşık 3 aylık, 200-250 gr ağırlığında toplam 30 adet Sprague Dawley cinsi dişi erişkin sıçan kullanıldı. Denekler rastlantısal olarak her biri 6 adet hayvan içeren 5 gruba ayrıldı.

#### 3.1. Deney Grupları

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

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

**Grup 3 (Injury + Metil prednizolon 30 mg/kg) (n=6):** T7-T9 seviyesinde laminektomi yapıp anevrizma klipi ile bası uygulandıktan sonra intraperitoneal olarak 5 dakika içinde Metil prednizolon 30 mg/kg uygulanmış 7 gün izlendikten sonra 8. gün sakrifiye edilerek patolojik inceleme için gönderilen grup.

**Grup 4 (Injury + Tosilizumab (4 mg/kg) (n=6):** T7-T9 seviyesinde laminektomi yapıp anevrizma klipi ile bası uygulandıktan sonra intraperitoneal olarak 7 gün artarda uygulama yapıldıktan sonra 8. gün sakrifiye edilerek patolojik inceleme için gönderilen grup.

**Grup 5 (Injury + Tosilizumab (8 mg/kg) (n=6):** T7-T9 seviyesinde laminektomi yapıp anevrizma klipi ile bası uygulandıktan sonra intraperitoneal olarak 7 gün artarda uygulama yapıldıktan sonra 8. gün sakrifiye edilerek patolojik inceleme için gönderilen grup.

Her grup ayrı kafeslerde uygun şartlar altında muhafaza edildi, intraperitoneal yöntemle ilaç verildi. Takipleri ve ilaç verilmiş günleri ayrı ayrı yazılarak tüm veriler kayıt altına alındı. Günde iki kez kontrol edilerek manuel mesane basısıyla idrar çıkışları sağlandı.



Şekil 14. Sıçan kafeslerinin genel görünümü.

### 3.2. Anestezi

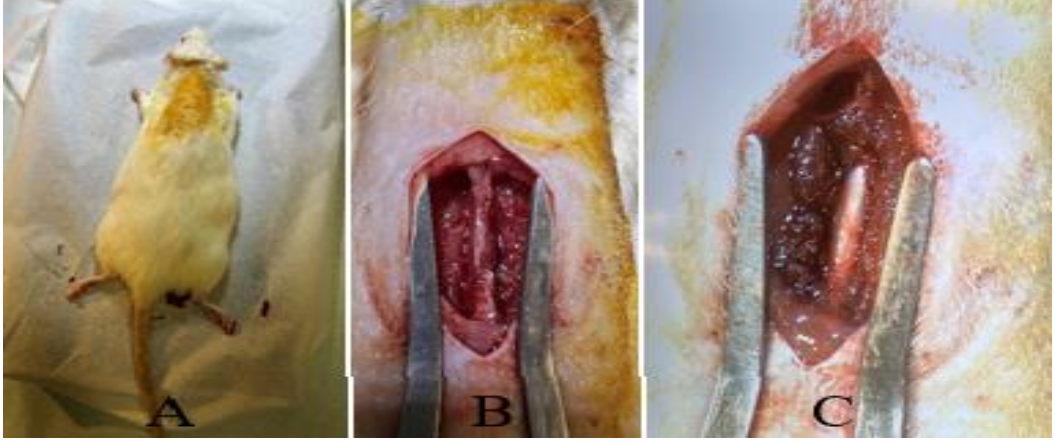
Cerrahi işlem yapılacak olan tüm gruplardaki sıçanlara genel anestezi amaçlı 90mg/kg Ketamin (Ketalar, Parke-Davis Eczacıbaşı-İstanbul) ve 10 mg/kg Ksilazin intramüskuler enjeksiyonuyla anestezi uygulanarak sedasyon sağlandı.

### 3.3 Cerrahi İşlem

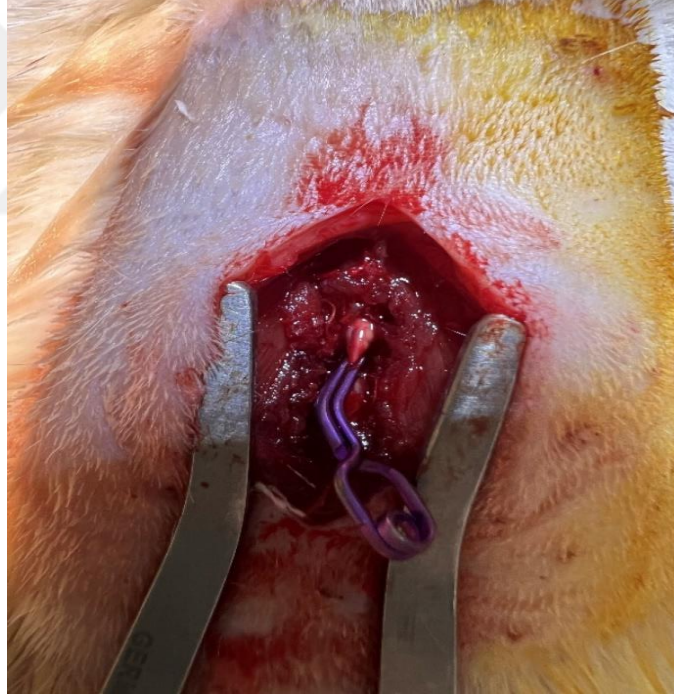
Sıçanlar tespit tahtalarına prone pozisyonunda yerleştirildi. Torakal bölgesi önce PVD iyodin (Batticon st solüsyon Adeka Samsun) ile sterilize (Şekil 15a) edildikten sonra tıraşlandı. Cilt tıraşından sonra tekrar PVD iyodin ile sterilizasyon sağlandı. Operasyon boyunca ve anestezi etkisi sonlanana kadar ısıtıcı ped ile vücut ısısı 37 C tutuldu. İnterskapular mesafe referans alınarak T7-T9 seviyesinde iki cm'lik insizyon ile cilt, cilt altı geçilip paravertebral kaslar sıyrıldı. Mastoid ekartör yerleştirildi (Şekil 15b). Laminalar ortaya çıkarıldı. T 7-8-9 total laminektomi yapıldı. Spinal kord ortaya konuldu (Şekil 15c). Duramaterde travma oluşturulmadan önce laminalar lateralden alındı, duramater tam kat anevrizma klipi ile kompresyon uygulanması 1 dakika süreyle yapıldı (Şekil 16). Hemostaz sağlandı, paravertebral adaleler ve cilt usulüne uygun 2/0 vicryl ile primer sütüre edildi. Sıçanlar normal oda ısısında uyandırıldı ve gruplar için hazırlanmış ayrı kafeslere yerleştirildi.

Cerrahi işlemlerde grup 1'e yalnızca laminektomi, grup 2,3,4 ve 5 'e laminektomi ve anevrizma klipi uygulandı. Sıçanlar cerrahi işlemin sonrasında değerlendirildi. Grup 1'deki 6 sıçanın motor kuvvetlerinin tam olduğu, diğer gruptaki

sıçanların paraplejik olduğu görüldü. İdrar çıkışı ve motor fonksiyonları uygun ısı ve ortamda günde iki kez takip edildi.



**Şekil 15.** A-Sıçanların cerrahi öncesi prone pozisyonda povidon iyot ile dezenfekte edilmesi, B- Cilt insizyonu ve paravertebral kasların sıyrılması sonrası ekartör yerleştirilmesi, C- Laminektomi sonrası spinal dura görünümü.



**Şekil 16.** Anevrizma klipi uygulanması.

### 3.4. Tosilizumab Veriliş Yöntemi ve Sıklığı

Grup 1: Herhangi bir ilaç verilmedi.

Grup 2: Herhangi bir ilaç verilmedi.

Grup 3: 6 adet sıçana intraperitoneal olarak 5 dakika içinde Metil prednizolon 30 mg/kg uygulandı.

Grup 4: 6 adet sıçana intraperitoneal olarak 7 gün art arda Tosilizumab 4 mg/kg uygulandı.

Grup 5: 6 adet sıçana intraperitoneal olarak 7 gün art arda Tosilizumab 8 mg/kg uygulandı.



Şekil 17. İntraperitoneal tosilizumab verilişi.

### 3.5. İyileşmeyi Değerlendirilme Kriterleri

Hasar skoru muayene yöntemi olarak eğik düzlem (Şekil 18a) ve motor muayene (Drummond ve Moore kriterleri) (Tablo 5) kullanıldı. Tosilizumabın hasar üzerindeki koruyucu ve tedavi edici etkinliği araştırıldı.

### 3.5.1 Eğik düzlem ile değerlendirilmesi

Rivlin ve Tator' un 1977'de oluşturduğu yöntemde deney hayvanının eğik düzlem üzerinde 5 sn boyunca kaymadan durabildiği açı esas altına alınarak kayıt edilmektedir (72,89). Sıçan yere paralel olan düzlem üzerine yerleştirildi, düzlem aşamalı olarak kaldırıldı. Deneklerin kaydığı açı 1.3 ve 7. günde kaydedildi.

### 3.5.2 Drummond Moore kriterleri ile değerlendirme

Sıçanların 1.3 ve 7. günlerde motor muayeneleri yapılarak kaydedildi.

**Tablo 5.** Drummond Moore kriterleri 0 puan 1 puan 2 puan 3 puan 4 puan.

0 Puan	Alt ekstremitelerinde motor kas fonksiyonu yok, paraplejik
1 Puan	Alt ekstremitede motor fonksiyon zayıf, sadece yer çekimine karşı zayıf hareket
2 Puan	Orta derecede alt ekstremitde motor fonksiyonu, yer çekimine karşı güç iyi fakat bacaklarını vücudun altına çekemiyor
3 Puan	Motor fonksiyon çok iyi, bacaklarını vücudun altına çekip zıplayabiliyor, fakat tam normal motor fonksiyon değil
4 Puan	Normal motor fonksiyon

### 3.6. Spesmenin Alınışı

Tüm gruplardaki bütün sıçanlar 7 günlük takiplerinin sonunda 8. Günde sakrifiye edildi. Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra, sıçanların önceden cilt kesisi yapılan yerden girilerek, laminektomi yapılan ve dura üzerinden klip uygulanarak AOY oluşturulan kısma ulaşıldı, duraya hasar verilen kord kısmı düzenli olarak çıkarıldı (Şekil 18b). Alınan örnekler hazırlanan %10 formaldehit içeren kaplara konuldu (Şekil 18c). Her bir sıçan grubu ve kaçınıcı denek hayvanı olduğu kapların üzerine not edildi. İncelemenin yapılacağı laboratuvara alındı.



**Şekil 18.** A-Eğik düzlem testi, B- AOY oluşturulan segment, C-Grup ve sıçan numaralarının yazıldığı kaplar.

### 3.7.İşık Mikroskobu İncelemesi İçin Dokuların Hazırlanması

Aşağıda verilen sırayla dokulara takip işlemi uygulandı.

1. Dokular 24 saat bouin solüsyonunda fikse edildi.
2. 15 dakika % 70'lik alkolde bekletildi.
3. 15 dakika % 80'lik alkolde bekletildi.
4. 30 dakika % 90'lik alkolde bekletildi.
5. 30 dakika % 90'lik alkolde bekletildi.
6. 30 dakika % 96'lik alkolde bekletildi.
7. 30 dakika % 96'lik alkolde bekletildi.
8. 45 dakika % 96'lik alkolde bekletildi.
9. 45 dakika Asetonda bekletildi.
10. 10 dakika 1. Ksilen'de bekletildi.
11. 20 dakika 2. Ksilen'de bekletildi.
12. 10 dakika Parafin-1'de 75°C sıcaklıktaki etüvde bekletildi.
13. 20 dakika Parafin-2'de 75°C sıcaklıktaki etüvde bekletildi
14. 30 dakika Parafin-3'de 75°C sıcaklıktaki etüvde bekletildi
15. Takip edilen dokular metal gömme kaplarında parafine gömülerek etiketleme yapıldı.

Hazırlanan bloklardan mikrotom cihazı ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Daha sonra su banyosunda düzleştirme yapılarak lam üzerine alındı. Bu kesitlere hematoksilen&eosin boyaması ve Cleaved Caspase 3 (Cell Signaling, #9664) antikoru ile immünohistokimyası yapıldı.

### **3.7.1.Hematoksilen & eozin boyaması**

Kesitler, doku dışında bulunan parafinlerini bırakması için 75° C sıcaklıktaki etüvde 40 dakika boyunca bekletildi. Etüvden çıkan kesitler, 15'er dakika ksilen 1 ve ksilen 2'de bekletildi. Her birinde 10 dip olmak kaydıyla % 96, % 80 ve % 70 etil alkole daldırılan dokular akan suda yıkanarak dokunun suyu tekrar geri verildi. Nükleusların boyanması için 3 dakika hematoxilende bekletildi. Sonrasında akan suda yıkandı. Çok hızlı bir şekilde 2 defa asit alkole daldırıldıktan sonra akan suda yıkandı. Dokular hızlı bir şekilde 2 defa amonyaklı suya daldırıldı. Tekrardan akan suda yıkandı. 10 dip % 70'lik etil alkole daldırıldı. Sitoplazmanın boyanması için 40 saniye alkolde çözülmüş eozinde bekletildi. Ardından akan suda yıkandı. 10'ar dip % 70, % 80 ve % 96'lik etil alkole daldırıldı. 10 dakika ksilende bekletildikten sonra 2 dakika 75° C sıcaklıktaki etüvde bekletildi ve lamalar entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

### **3.7.2.Cleaved caspase 3'ün immünohistokimyasal boyaması**

#### **3.8.2.1.Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS)**

2,85 gram di sodyum hidrojen fosfat (Carlo Erba, #480141) 16 gram sodyum klorür (Iso Lab, #969.036.1000) ve 0,8 gram potasyum dihidrofosfat (Iso Lab, #960.066.1000) 2 litre distile su (dH2O) içine eklenerek çözdürüldü. Daha sonra pH değerine bakıldı. pH 7.2 ile 7.4 arasında olmalıdır.

#### **3.8.2.2.Sitrat tamponu**

2,10 gram sitrik asit (Iso Lab, #910.046.1000) 900 ml distile su (dH2O) içine atılarak çözdürüldü. Daha sonra pH değerine bakıldı. Genellikle pH değeri 2.80 çıkan sitrat tamponu NaOH ile pH 6'ya ayarlandı.

#### **3.8.2.3.%3 H2O2 hazırlanması**

63 ml methanol (Carlo Erba, #412722) üzerine 7 ml %35 hidrojen peroksit (H2O2) (Iso Lab, #932.122.2500) eklendi.

#### **3.8.2.4.DAB Hazırlama**

1500 µl DAB substrat'a 30µl DAB kromojen eklenmesi ile hazırlandı. Tüm grupların parafin bloklarından immün lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Parafin kesitler 75° C'deki etüvde 40 dakika bekletildi. Etüvden sonra deparafinizasyon için ksilen 1'de 10 dakika, ksilen 2'de 5 dakika bekletildi. Daha sonra kesitler her birinde 5 dakika olmak kaydıyla %100, %90, %80, %70'lik etil

alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edildi. Kesitler distile suda (dH<sub>2</sub>O) 5 dakika bekletildi. Antijenik maskelenmenin giderilmesi amacıyla, kesitler 0.01 M sitrat tamponuna (pH:6.0) konularak mikrodalga fırında 8 dakika 750 Watt'ta kaynatıldı ve sonra 20 dakika boyunca oda ısısında soğumaya bırakıldı. Fosfat tamponlu tuz (PBS) (pH: 7.2 -7.4) çözeltisinde 3 kez 5 dakika yıkama yapıldı. Endojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi amacıyla kesitler %3' lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 15 dakika inkübe edildi. 3 kez 5 dakika PBS ile yıkama yapıldı. Kesitlerin etrafı hidrofobik kalemle (Pap-pen) çizildi. Kesitler, oda sıcaklığında ve nemli ortamda özgül olmayan immunoglobulin G (IgG) bağlanmalarını önlemek amacıyla bloklama serumu ile 7 dakika muamele edildi. Kesitlere, Cleaved Caspase 3 (Cell Signaling, #9664) (1:200) primer antikoru damlatıldı. Kesitler nem kutusunda +4° C'de gece boyu inkübe edildi. İkinci gün kesitler PBS ile 3 kez 5 dakika yıkandı. Daha sonra, 1 saat biyotinlenmiş sekonder antikor ile oda ısısında nemli ortamda inkübe edildi. 3 kez 5 dakika PBS ile yıkama yapıldı. Sonrasında 20 dakika HRP-konjuge streptavidin kompleksi ile oda ısısında nemli ortamda inkübe edildi. PBS ile 3 kez 5 dakika yıkama yapıldı. Görüntüyü geliştirmek için dokular 4 dakika di-amino-benzidin (DAB) (ScyTek, #ACK125) kromojeni ile muamele edildi ve distile suda yıkandı. Kesitlere Mayer's hematoksilen (ScyTek, #800-729-8350) ile 1 dakika zıt boyama yapıldı. Normal çeşme suyunda yıkanan kesitler her birinde 10 dip olmak kaydıyla %70, %80, %90'luk etil alkol serilerinden geçirildi. %100'lük alkolde 4 dakika bekletilerek dehidrate edildi. Çıkış ksileni 1 ve ksilen 2'de 5'er dakika bekletilerek entellan kapatma solüsyonu ile lamalar kapatıldı.

### **3.8. İmmünohistokimya Sonuçlarının İmageJ programı İle Analizi**

Olympus BX50 mikroskobu ile Zeiss AxioCam ICc5 kamera kullanılarak Kontrol, Injury-Sham, Injury + Metil prednizolon 30 mg/kg, Injury + Tosilizumab (4 mg/kg) Injury + Tosilizumab (8 mg/kg) gruplarından immun boyanmış kesitlerin mikrografları çekildi ve ImageJ programı kullanılarak İmmünohistokimyasal boyama yoğunlukları değerlendirildi. Kontrol, Injury-Sham, Injury + Metil prednizolon 30 mg/kg, Injury + Tosilizumab (4 mg/kg) Injury + Tosilizumab (8 mg/kg) gruplarından her kesitten 10 mikrograf alınarak değerlendirmeye dahil edildi. Öncelikle boyanan alanın tamamı (hematoksilen + DAB) seçilecek şekilde ayarlandı. Ardından, hücrenin boyanma yoğunluğunu

seçmek için yalnızca DAP-pozitif alanlar seçildi. Boyanma yoğunluğu, DAB-pozitif alanın yoğunluğunun, toplam boyanma yoğunluğuna bölünmesi ve çıkan sonucun 100 ile çarpımı yoluyla belirlendi. Sonuç olarak, ortalama yoğunluk yüzde olarak 0-100 aralığında ifade edildi.

### **3.9. İstatistiksel Analiz**

Verilerin dağılımı Shapiro-Wilk testiyle incelenmiş, grup karşılaştırmalarında one-way ANOVA veya Kruskal-Wallis testleri kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için post hoc Tukey veya Bonferroni düzeltmesi ile gruplar karşılaştırılmıştır. Veriler dağılımına uygun olarak ortalama ve standart sapma veya ortanca, çeyrekler arası genişlik ve minimum-maksimum değerler ile özetlenmiştir. Kategorik değişkenler Fisher-Freeman-Halton test ile karşılaştırılmış, sayı ve yüzde şeklinde verilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS v.22 paket programı ile yapılmış ve istatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak dikkate alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Eğik Düzlem ve D&M Sonuçları

#### 4.1.1 1. Gün grupların karşılaştırılması

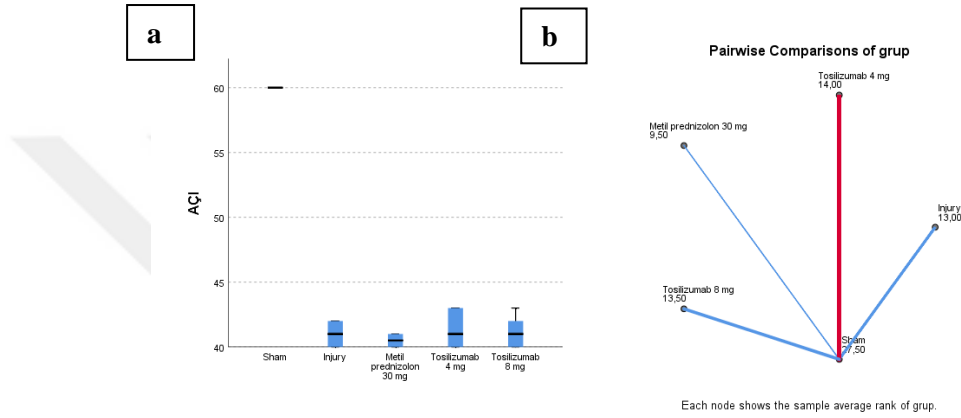
**Tablo 7.** 1. Gün grupların karşılaştırılması. Veriler ortanca (ÇAG, çeyrekler arası genişlik) ve [minimum-maksimum] değerler şeklindedir.

1.gün	Kontrol (n=6)	Injury- sham (n=6)	Metil pr. (n=6)	Tos. 4mg (n=6)	Tos. 8mg (n=6)	P
AÇI	60 (0) [60-60]	41 (2) [40-42]	40,5 (1) [40-41]	41 (3) [40-43]	41 (2) [40-43]	<b>0,003</b>
DMO	3,5 (1) [3-4]	0 (1) [0-1]	0 (0) [0-1]	0 (0) [0-1]	0 (0) [0-0]	<b>0,001</b>
D&M (1.gün)						
0	0 (%0,0)	4 (%66,7)	4 (%66,7)	4 (%66,7)	6 (%100)	<b>&lt;0,001</b>
1	0 (%0,0)	2 (%33,3)	2 (%33,3)	2 (%33,3)	0 (%0,0)	
3	3 (%50,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
4	3 (%50,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	

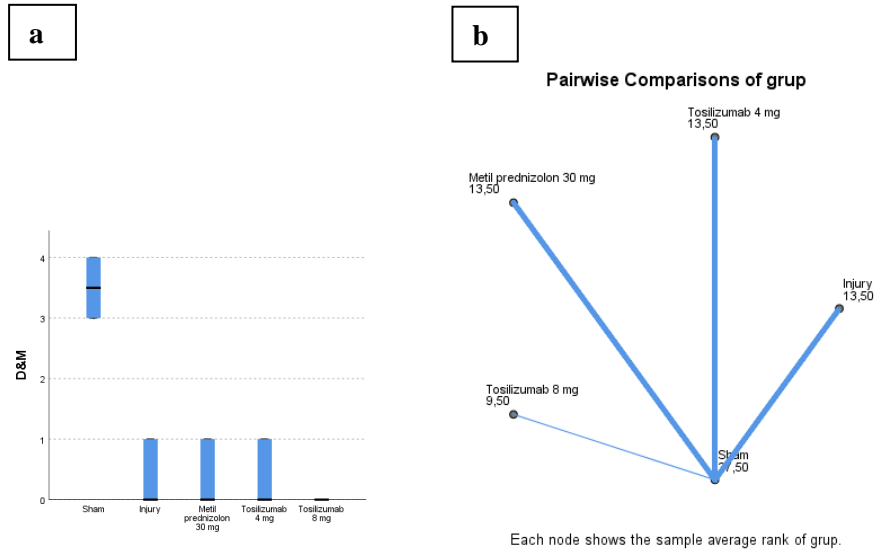
1.günde injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının tümünde eğik düzlem açısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla p=0,032; p=0,003; p=0,041 ve p=0,044). Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 1.gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 19).

1.günde injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8

mg gruplarının tümünde D&M kriteri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p=0,018$ ;  $p=0,018$ ;  $p=0,018$  ve  $p=0,001$ ). Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 1.gün D&M kriteri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 20).



Şekil 19. a) Gruplarda 1.gün açI değerleri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.



Şekil 20. a) Gruplarda 1.gün D&M değerleri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

### 4.1.2 3. Gün grupların karşılaştırılması

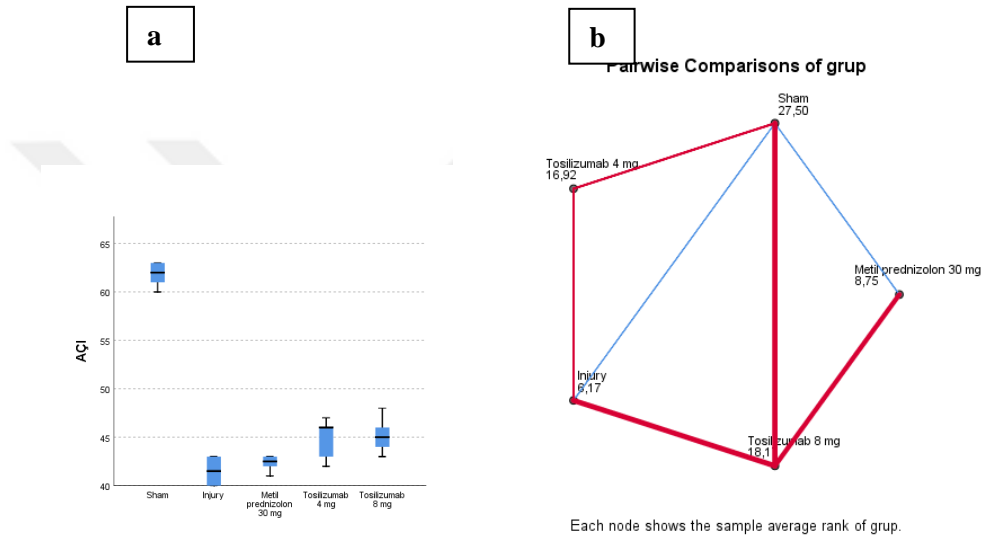
**Tablo 8. 3.** Gün grupların karşılaştırılması. Veriler ortanca (ÇAG, çeyrekler arası genişlik) ve [minimum-maksimum] değerler şeklindedir.

3.gün	Kontrol (n=6)	Injury- sham (n=6)	Metil pr. (n=6)	Tos. 4mg (n=6)	Tos. 8mg (n=6)	p
AÇI	62 (2) [60-63]	41,5 (3) [40-43]	42,5 (1) [41-43]	46 (4) [42-47]	45 (3) [43-48]	<0,001
DMO	4 (1) [3-4]	0,5 (1) [0-1]	1 (1) [0-1]	0,5 (1) [0-1]	1 (1) [0-2]	0,001
D&M (3.gün)						
0	0 (%0,0)	3 (%50,0)	2 (%33,3)	3 (%50,0)	1 (%16,7)	
1	0 (%0,0)	3 (%50,0)	4 (%66,7)	3 (%50,0)	3 (%50,0)	
2	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	2 (%33,3)	<0,001
3	2 (%33,3)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
4	4 (%66,7)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	

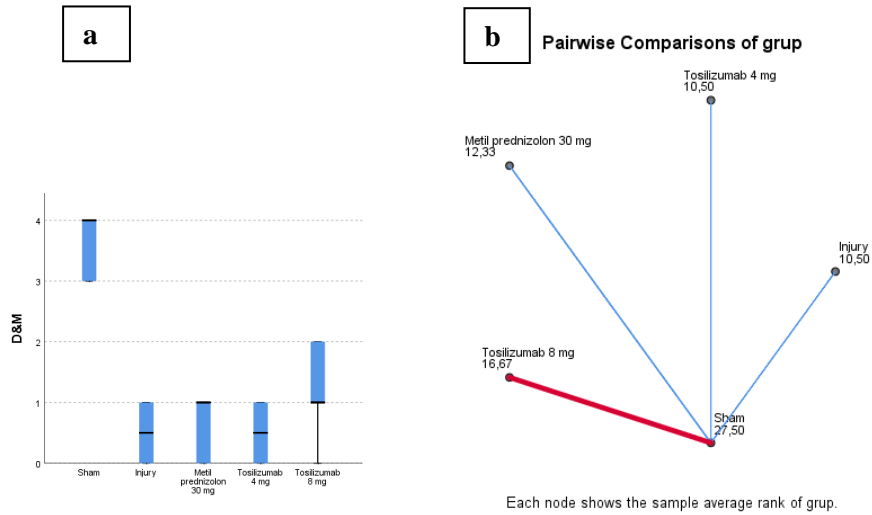
3.günde injury ve metil prednizolon 30 mg gruplarında eğik düzlem açısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p=0,002$ ). Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında ise eğik düzlem açısı bakımından sham grubu ile anlamlı bir farklılık görülmemiştir (sırasıyla  $p=0,354$  ve  $p=0,636$ ). Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 3.gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 21).

3.günde injury, metil prednizolon 30 mg ve tosilizumab 4 mg gruplarında

D&M kriteri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p=0,004$ ;  $p=0,016$  ve  $p=0,004$ ). Tosilizumab 8 mg grubunda ise D&M kriteri sham grubuna benzer bulunmuştur ( $p=0,238$ ). Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 3.gün D&M kriteri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 22).



Şekil 21. a) Gruplarda 3.gün aç değeri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.



Şekil 22. a) Gruplarda 3.gün D&M değeri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

#### 4.1.3 7. Gün grupların karşılaştırılması

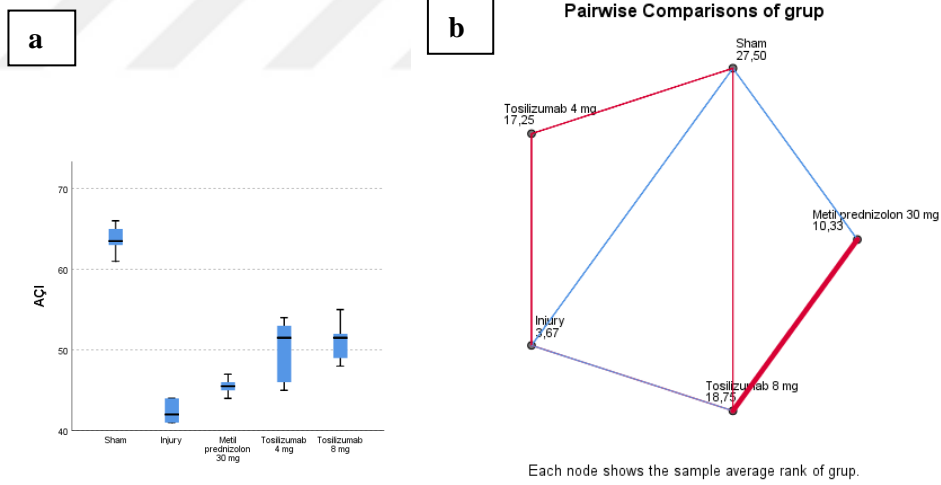
**Tablo 9. 7.** Gün grupların karşılaştırılması. Veriler ortanca (ÇAG, çeyrekler arası genişlik) ve [minimum-maksimum] değerler şeklindedir.

7.gün	Kontrol (n=6)	Injury- sham (n=6)	Metil pr. (n=6)	Tos. 4mg (n=6)	Tos. 8mg (n=6)	p
AÇI	63,5 (3) [61-66]	42 (3) [41-44]	45,5 (2) [44-47]	51,5 (8) [45-54]	51,5 (4) [48-55]	<0,001
DMO	4 (0) [3-4]	1 (1) [0-1]	1 (1) [1-2]	2 (1) [1-2]	2 (1) [1-2]	0,001
D&M (7.gün)						
0	0 (%0,0)	2 (%33,3)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
1	0 (%0,0)	4 (%66,7)	4 (%66,7)	2 (%33,3)	2 (%33,3)	
2	0 (%0,0)	0 (%0,0)	2 (%33,3)	4 (%66,7)	4 (%66,7)	<0,001
3	1 (%16,7)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	
4	5 (%83,3)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	

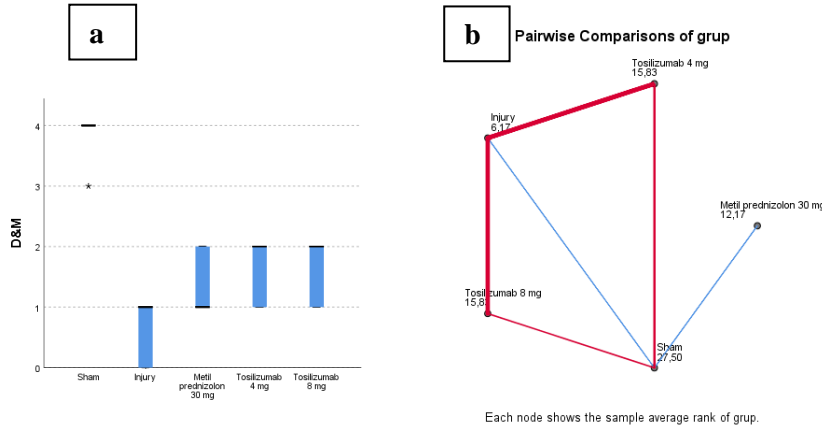
7.günde injury ve metil prednizolon 30 mg gruplarında eğik düzlem açısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p=0,007$ ). Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında ise eğik düzlem açısı bakımından kontrol grubu ile anlamlı bir farklılık görülmemiştir (sırasıyla  $p=0,433$  ve  $p=0,845$ ). Injury ve metil prednizolon 30 mg grupları birbirine benzer bulunurken, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında ise eğik düzlem açısının injury grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Tosilizumab 4 mg grubunda eğik düzlem açısı injury grubuna göre daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel

anlamlılık göstermediği ( $p=0,074$ ) bulunurken, tosilizumab 8 mg grubunda ise eğik düzlem açısının injury grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p=0,029$ ). Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında eğik düzlem açısının metil prednizolon 30 mg grubuna göre daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel anlamlılık göstermediği saptanmıştır. Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 7.gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 23).

7.günde injury ve metil prednizolon 30 mg gruplarında D&M kriteri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p=0,014$ ). Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında ise D&M kriteri kontrol grubuna benzer bulunmuştur (her iki  $p=0,153$ ). Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 7.gün D&M kriteri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 24).



Şekil 23. a) Gruplarda 7.gün aç değeri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

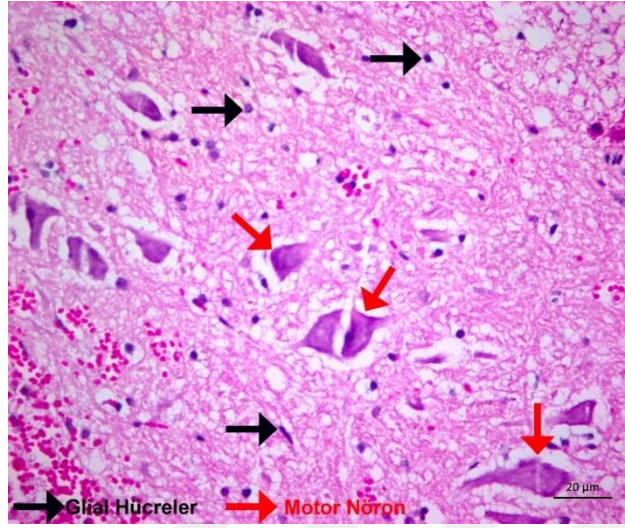


Şekil 24. a) Gruplarda 7.gün D&M değerleri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

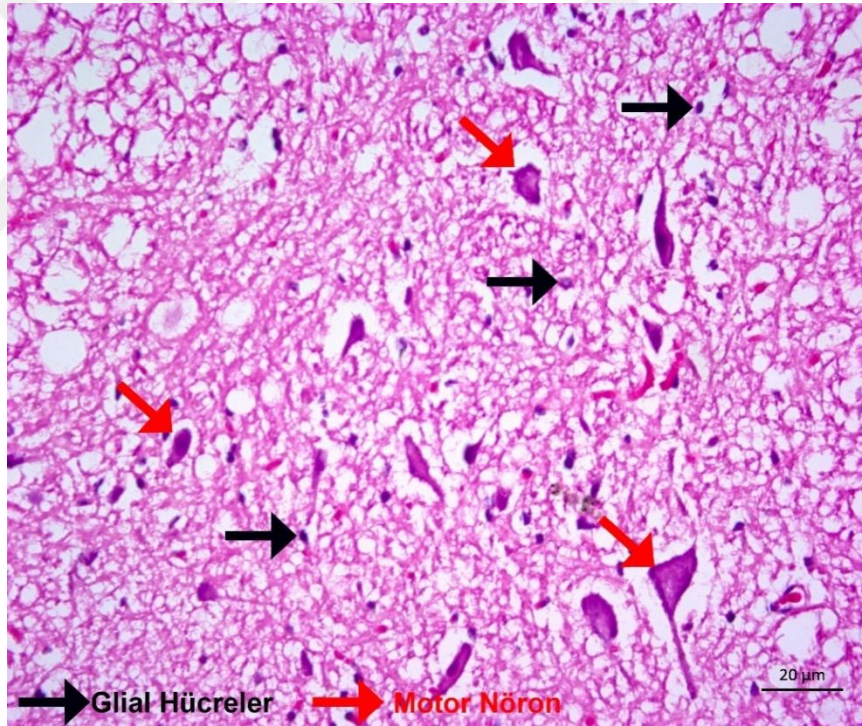
## 4.2 Histopatolojik Bulgular

Medulla spinalis dokusunda meydana gelen morfolojik değişimleri göstermek amacı ile hematoksilien&eoizin boyaması yapıldı. Histopatolojik inceleme sonucunda kontrol grubunda glial hücrelerin nüklear yapısında, motor nöronların stoplazmik yapısı, uzantıları ve nükleusunda herhangi bir anormal değişikliğe rastlanmadı (Şekil-25). Ancak injury-sham grubunun glial hücre nükleuslarında küçülme ve yoğunlaşma, motor nöronlarda ise sitoplazmanın büzüldüğü, nükleusların yoğunlaştığı ve çoğu hücrede seçilemediği ve hücre uzantılarının düzensizleştiği, bazı hücrelerin dejenere olduğu saptandı (Şekil-26). Injury + Metil prednizolon 30 mg/kg grubundaki glial hücre nükleusları injury-sham grubuna göre daha iyi seçilebiliyordu. Injury + Metil prednizolon 30 mg/kg grubu motor nöronlarının sitoplazmalarında büzülme daha azdı, nükleus ve nükleolusları ayırt edilebiliyordu ve hücre uzantıları injury-sham grubuna göre daha düzenliydi (Şekil-27). Injury + Tosilizumab (4 mg/kg) grubu ve Injury + Tosilizumab (8 mg/kg) grubu glial hücreleri nükleusları rahatlıkla seçilebiliyordu. Injury + Tosilizumab (4 mg/kg) grubu ve Injury + Tosilizumab (8 mg/kg) grubu motor nöronların sitoplazmaları normal, nükelus ve nükleolusları ayırt edilebiliyor ve hücre uzantıları normaldi

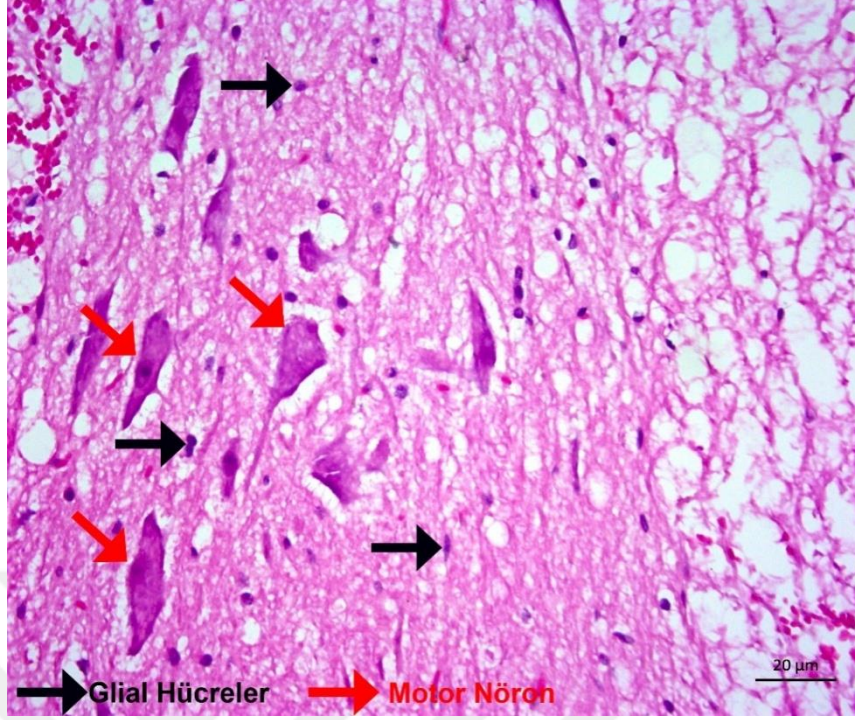
(Şekil-28 ve Şekil-29).



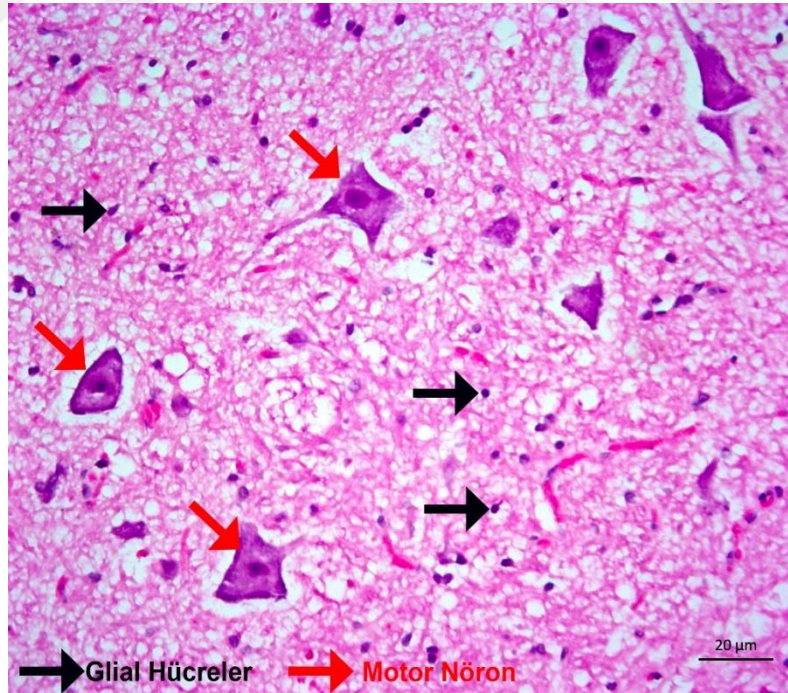
Şekil 25. Kontrol grubu hematoksilin&eozin boyaması temsili mikrografi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.



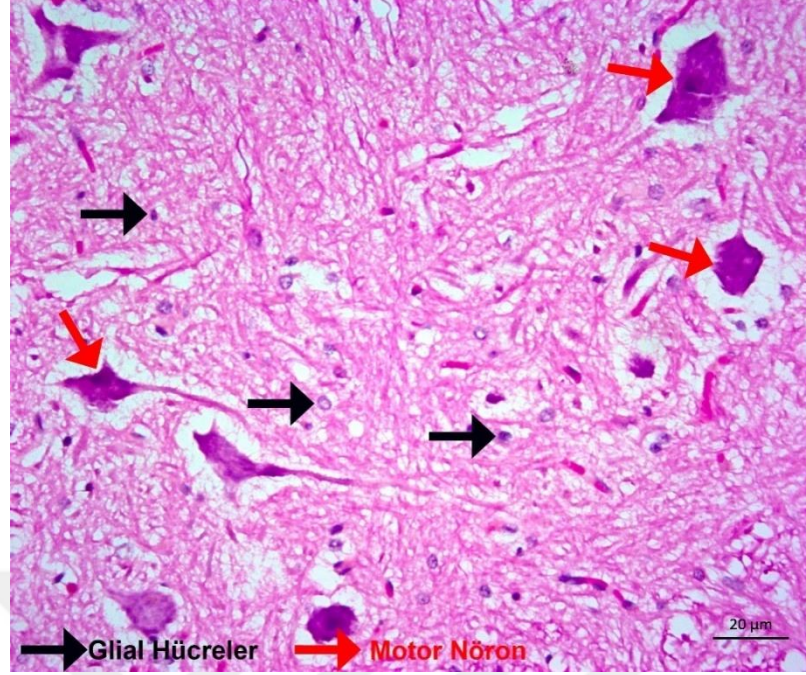
Şekil 26. İnjury-sham grubunda hematoksilin&eozin boyaması temsili mikrografi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.



**Şekil 27.** Injury + Metil prednizolon 30 mg/kg grubu hematoksisilen&eoizin boyaması temsili mikrografi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.



**Şekil 28.** Injury + Tosilizumab (4 mg/kg) grubu hematoksisilen&eoizin boyaması temsili mikrografi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.

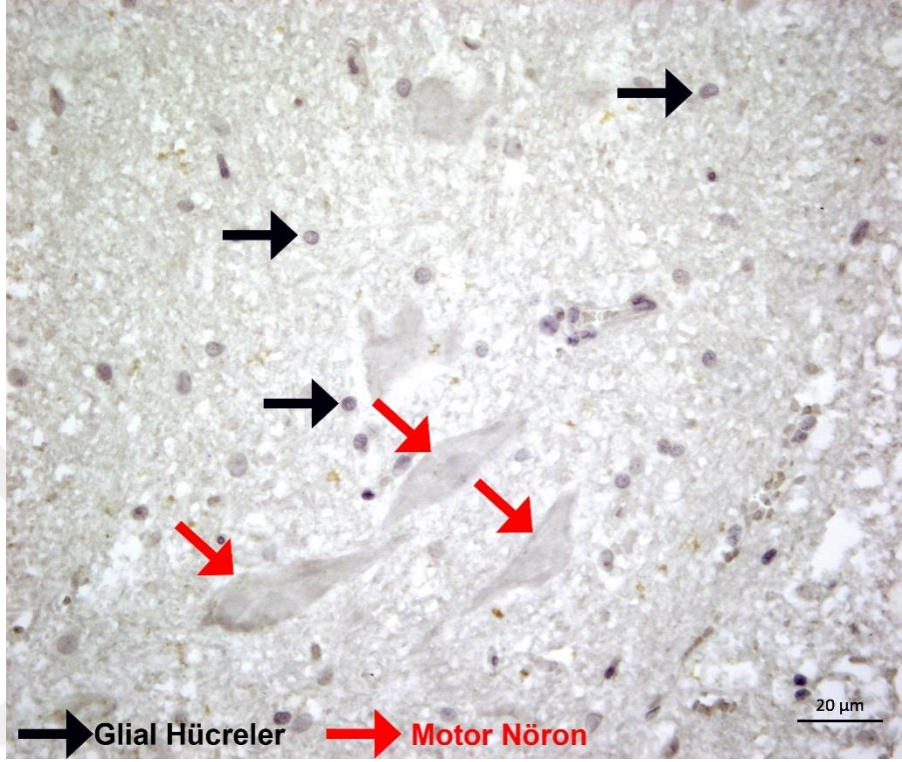


Şekil 29. Injury + Tosilizumab (8 mg/kg) grubu hematoksilin&eoizin boyaması temsili mikrografı. kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 μm'dir.

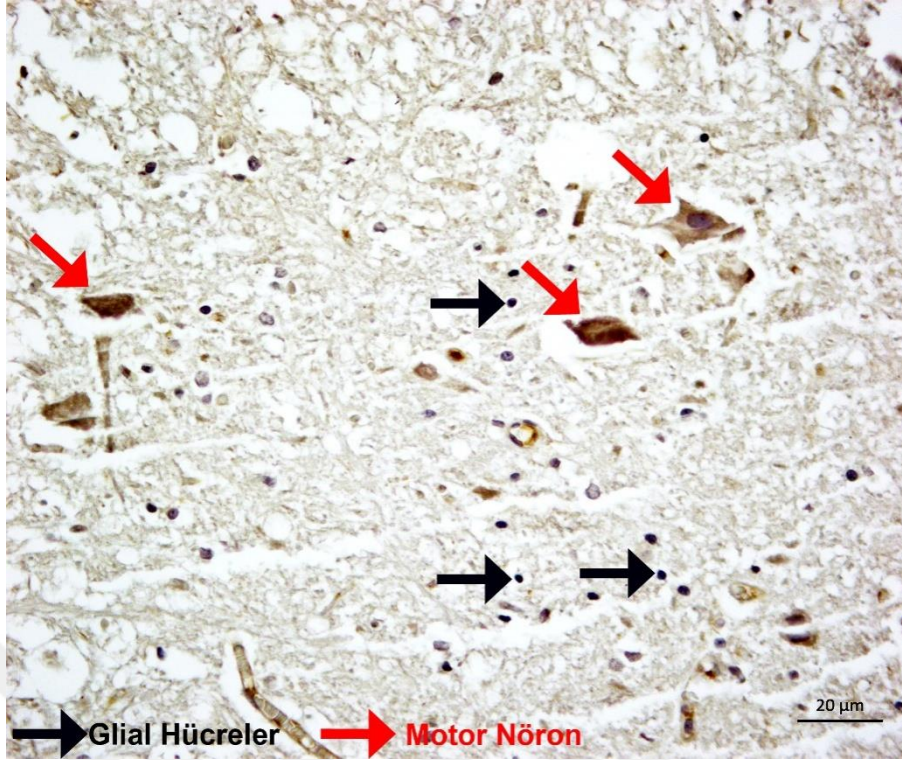
#### 4.3 Cleaved Caspase 3 İmmunohistokimya Bulguları

Cleaved Caspase 3 boyanma paterni sitoplazmik ve nükleardı. Kontrol grubunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonu çok zayıftı ve motor nöronlarda negatifti (Şekil-30). Injury-sham grubunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonu çok yoğun pozitif ve birçok motor nöronun hem sitoplazması hemde nükleusunda ekspre oldu. Bazı glial hücrelerinde nükleusunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonu yoğun şekilde gözlendi (Şekil-31). Injury + Metil prednizolon 30 mg/kg grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu injury-sham grubuna göre daha düşüktü. Özellikle injury-sham grubu motor nöronlarda gözlenen Cleaved Caspase 3 ekspresyonu Injury + Metil prednizolon 30 mg/kg grubunda azaldı. Ancak bazı glial hücrelerde yoğun şekilde Cleaved Caspase 3 ekspresyonu gözlendi (Şekil-32). Injury + Tosilizumab (4 mg/kg) grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu Injury + Metil prednizolon 30 mg/kg grubuna göre daha da azalmıştır. Injury + Tosilizumab (4 mg/kg) grubunda sadece motor nöronlarda çok zayıf pozitif olarak sadece sitoplazmada gözlendi. Glial hücrelerde ise negatif olarak gözlendi (Şekil 33). Injury + Tosilizumab (8 mg/kg) grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu diğer gruplara kıyasla daha da düşüktü ve kontrol grubuna en yakın olan gruptu. Cleaved Caspase 3 ekspresyonu motor nöronlar ve glial

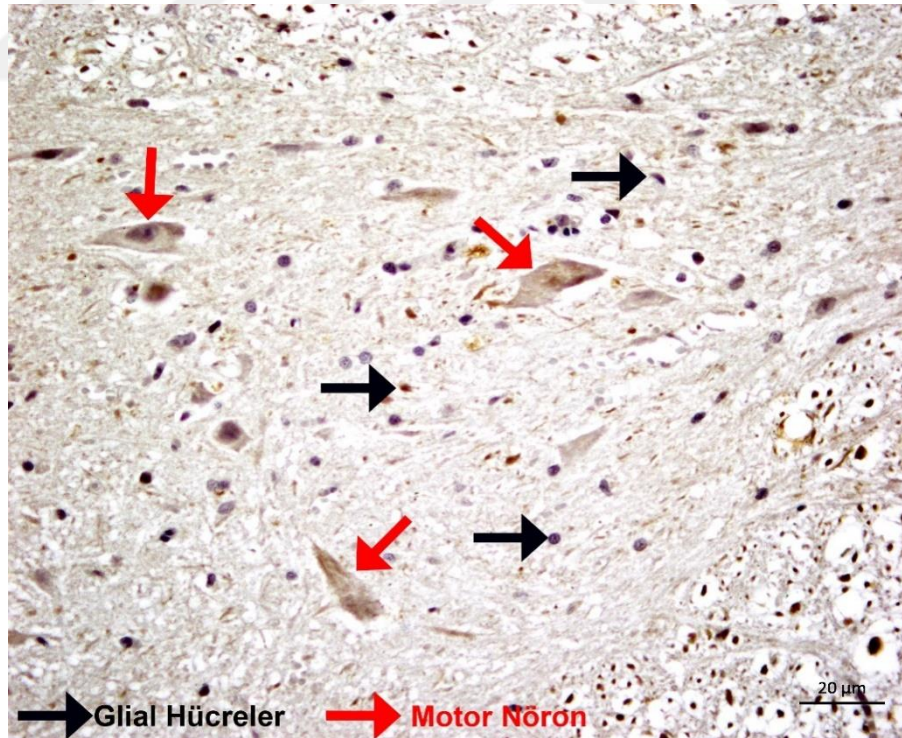
hücrelerde negatif iken nöronların sitoplazmik uzantılarında çok zayıf gözlendi (Şekil 34).



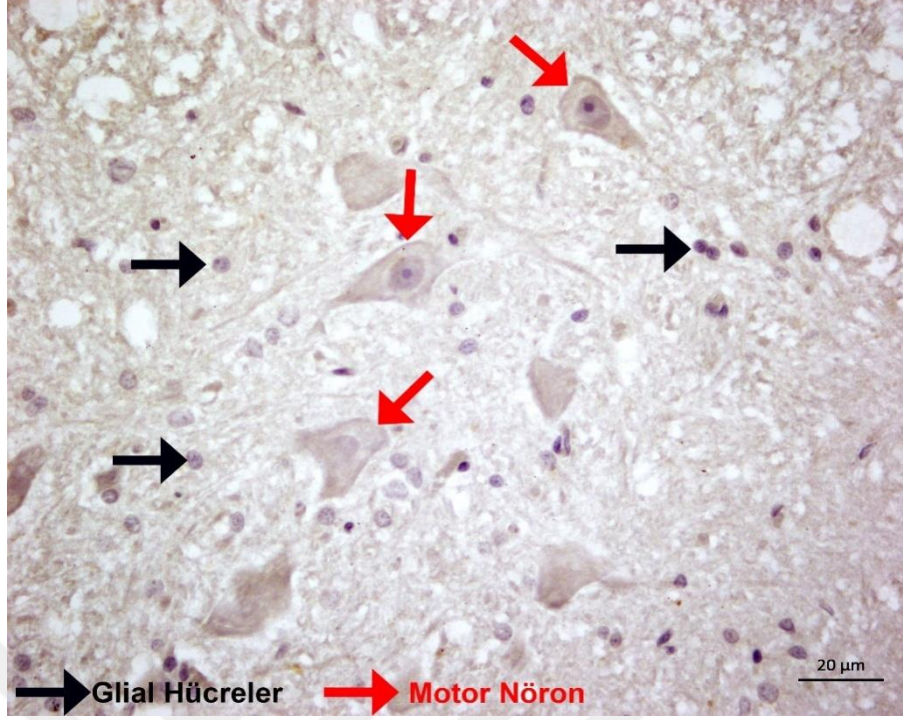
**Şekil 30.** Kontrol grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu temsili mikrografi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20  $\mu$ m'dir.



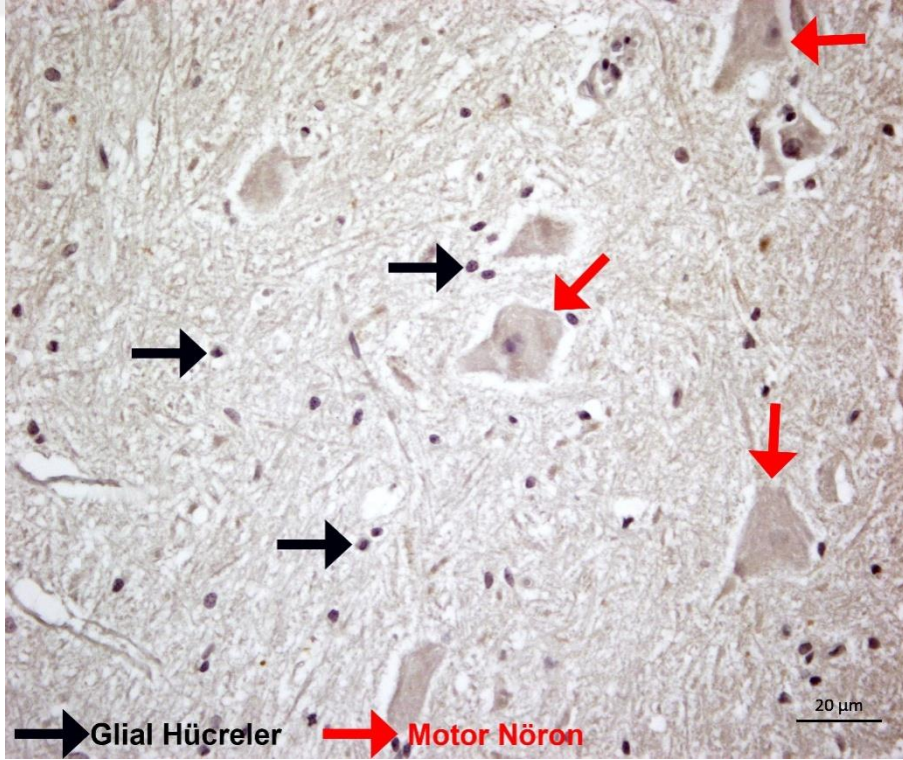
Şekil 31. İnjury-sham grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu temsili mikrografi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.



Şekil 32. İnjury + Metil prednizolon 30 mg/kg grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu temsili mikrografi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 µm'dir.



**Şekil 33.** Injury + Tosilizumab (4 mg/kg) grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu temsili mikrografi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve skala bar 20 μm'dir.



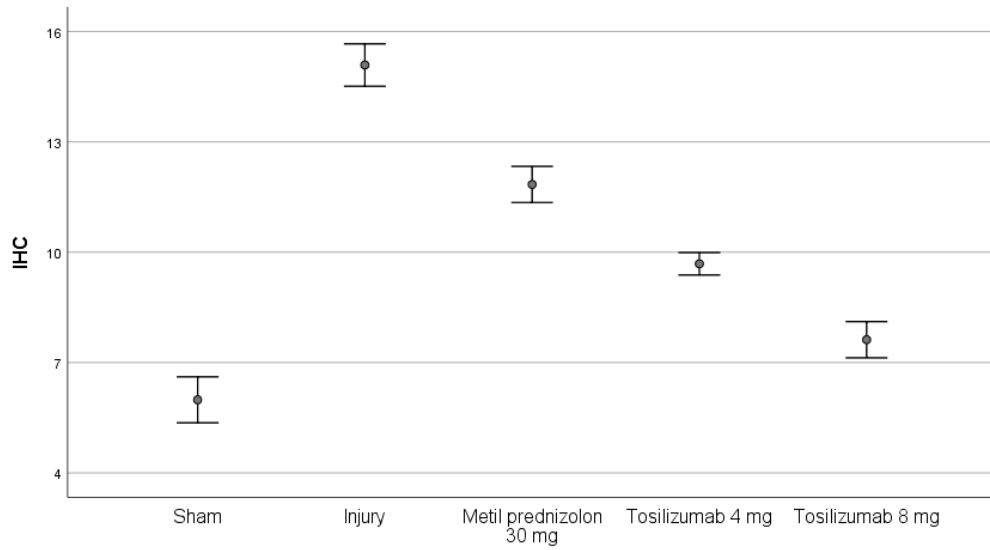
**Şekil 34.** Injury + Tosilizumab (8 mg/kg) grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu temsili mikrografi. Kırmızı ok; motor nöronları, siyah ok; glial hücreleri göstermektedir. Objektif büyütmesi 40x'dir ve

skala bar 20  $\mu\text{m}$ 'dir.

**Tablo 6.** Gruplarda İHC (İmmünohistokimya) değerleri.

	<b>Kontrol (n=6)</b>	<b>Injury- sham (n=6)</b>	<b>Metil pr. (n=6)</b>	<b>Tos. 4mg (n=6)</b>	<b>Tos. 8mg (n=6)</b>	<b>p</b>
İHC	5,99±1,64	15,09±1,51	11,84±1,29	9,68±0,80	7,62±1,30	<b>&lt;0,001</b>

İHC değerleri tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı bulunmuştur ( $p<0,001$ ). En düşük İHC değeri kontrol grubunda iken injury grubunda ise en yüksek düzeyde olduğu görülmüştür. Metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının tümünde İHC değerleri injury grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşüktür (tüm  $p<0,001$ ). Yine, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında da İHC değerlerinin anlamlı farklılık gösterdiği ve bu gruplar arasında en yüksek İHC düzeyi metil prednizolon 30 mg grubunda görülürken tosilizumab 8 mg grubunda ise en düşük düzeyde olduğu görülmüştür (tüm  $p<0,001$ ).



**Şekil 35.** Gruplarda İHC (immünohistokimya) değerleri.

## 5. TARTIŞMA

Yıllık oranı yaklaşık milyonda 20-40 kişi olan AOY ileri düzeyde ekonomik kayıplara neden olması, morbiditesinin yüksek olması, yaşam konforunu ileri düzeyde düşürmesi ve standardize edilebilmiş bir tedavisinin günümüzde olmaması nedeniyle önemini korumaktadır (90,91).

Travmatik yaralanmalarda ilk olarak omurilik ve omuriliği koruyan kemik, ligaman, vasküler yapıların mekanik anlamda zarar gördüğü primer hasar söz konusudur. Bu hasar travmanın mekanik etkisine bağlı olduğundan öngörülemez ve değiştirilemez. Birincil hasar erkenden tespit edilip dekompresyon, stabilizasyon ve fiziksel rehabilitasyon yapılsa dahi nörolojik düzelme çok sınırlı kalmaktadır. Birincil hasarın ardından bir dizi mekanizma ile tetiklenen ve uzun bir süreci kapsayan ikincil hasar meydana gelmektedir. Hastada görülen nörolojik defisitlerin oluşmasında ikincil hasar birincil hasara göre daha önemli yer tutmaktadır (92–94). Bu aşamanın patofizyolojik sürecinde; kan omurilik bariyerinin bozulması, ödem, vazospazm ile oluşan iskemi, hipoksi ve omurilik perfüzyonunun bozulduğu vasküler durumlar söz konusudur. Hücre içindeki  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{+2}$  gibi iyonların dengesinin değişmesi proteaz, lipaz, nükleaz gibi hücre yıkıcı enzimlerin salınması mitokondri ve enerji depolarının zarar görmesi gibi

biyokimyasal olaylar ile birlikte TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımı ile olay yerine nötrofil, lenfosit, makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ve astrosit gibi mikroglial hücrelerin aktivasyonu önemli rol oynamaktadır. Bu şekilde oligodentrositlerin hasarlanması, wallerian dejenerasyon, gliotik skar ve kavite oluşumu gerçekleşmiş olur (93,94).

İkincil hasar sürecinde oluşan inflamasyonun asıl amacı hücresel düzeyde hasarın stabilize edilmesi, hücre kalıntılarının temizlenmesi, ortamdan zararlı maddelerin uzaklaştırılması olsa da bu inflamatuvar yanıt aşırı olduğunda rejenerasyon yeteneği olan sağlıklı nöral dokunun hasarlanması kaçınılmazdır. Bu da birincil hasar sonucu oluşan nörodefisitinin daha da derinleşmesine neden olmaktadır (95,96).

Travmadan sonra ikincil hasar sürecinde vasküler yaralanmalar, ödem ve kan omurilik bariyerinin bozulması sonucu ortamda inflamatuvar hücreler artar. İnflamatuvar sürecin travma sonrası 3-7. günlerde daha da arttığını Whetstone ve ark.'larının yaptığı çalışma ile gösterilmiştir (97) Yakovlev ve ark., yaptıkları çalışmada ise travma sonrası 30. dakika itibariyle TNF- $\alpha$  mRNA düzeylerinin arttığı saptanmıştır (98). Bu artış travmadan sonra 24. saatte maksimum düzeye ulaşmaktadır (96). İkincil hasarın şiddetinin ortamdaki TNF- $\alpha$  miktarı ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (99).

İkincil hasarda bir diğer önemli aşama ise hücre mitokodrial aktivitesinin zarar görmesidir. Bu durum nörojenik ve sistemik şoka neden olup hipoksi, omurilik hipoperfüzyonu ve iskemi ortaya çıkarır ve tablo daha da ağırlaşır (100). Ayrıca omurilik perfüzyon bozukluğunun sonucu olarak kaspaz-3'ün aktifleşmesi ile apoptoz başlamış olur (101,102). Akabinde hücre içindeki Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ve Ca<sup>2+</sup> dengelerinin de bozulması ile nükleaz, proteinaz ve lipaz gibi yıkıcı enzimler artarken apoptotik moleküller aktifleşirler (103). Fehlings ve Tator posttravmatik iskeminin ikincil hasar sürecinin merkezini oluşturduğunu, tedavi edilebilir ve geri dönüşümlü olduğunu savunmaktadır (91).

Travma sonrası merkezi sinir sisteminin ana eksitatör nörotransmitteri olan Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonuna ve artan intrasellüler Ca<sup>2+</sup>'a bağlı olarak lipaz, proteinaz enzimleri aktive olurlar. Ayrıca lipit peroksidasyonunun başlaması ve glutamat etkisinin artışı reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin

oluşumuna neden olarak nöronal hasarı şiddetlendirir (104).Lea ve Faden, yaptıkları çalışmalarında glutamat reseptörlerini bloke ederek hücre içine Ca<sup>2+</sup> girişini azaltmış ve nöral inflamasyonu baskılamışlardır (105). İkincil hasarda aşırı NO oluşumu önemlidir. Fizyolojik süreçlerde NO her ne kadar önemli olsa da patolojik olarak aşırı sentezlenmesi nöral doku hasarına neden olur. Liu ve ark. normal spinal kord fizyolojisinde olmayan nitrik oksit sentaz enziminin yaptıkları gen ekspresyon çalışmalarında travma sonrası transkripsiyonel düzeyde eksprese edildiğini göstermişlerdir (106–108).

AOY sonrası ortaya çıkan inflamatuvar süreçte hasarlanan bölgeye ilk nötrofiller olmak üzere, monositler, mikroglia ve T-lenfositler de gelmektedir. Nötrofiller, diğer inflamatuvar hücreleri ve glial hücreleri aktive ederek sitokin, proteaz ve serbest radikalleri salgılar. Bu şekilde nöral doku hasarı ve ölümü ortaya çıkar (109).

İkincil hasar travma sonrası uzun döneme uzanan, yıllar sürebilen bir dönemdir. Bu süreç hipoksi, ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hücre yıkım süreçleri, nekroz, apopitoz, wallerian dejenerasyon ve nöral hasar sonucu oluşan kaviteye kadar uzanan birçok değişiklikler içermektedir (110,111).

Günümüzde araştırmacıların geliştirmeye çalıştıkları tedavi protokollerinin asıl amacı ikincil hasar sürecine yöneliktir. Bu bağlamda ikincil hasarın farklı basamaklarına etki eden birçok ajan kullanılmıştır. Demir şelatörleri, glutatyon, glukokortikoid gibi SOR oluşumunu azaltan antioksidan moleküller, kalsiyum kanal blokörleri, sodyum kanal blokörleri hipoperfüzyonu gidermek ve iyon dengesini sağlamak için opiot antagonistleri, volüm genişleticiler, trilazad mesylate ve özellikle de antiinflamatuvar etkisinden dolayı metil prednizolon yaygın olarak kullanılmıştır (112–115). Ayrıca antiagreganlar, analjezikler, antiödem tedavi ajanları, skar gidericiler, antiapoptotikler ve çok sayıda inflamasyon baskılayıcılar deneysel çalışmalarda kullanılmış olsa da etkisi kanıtlanmış bir molekül henüz saptanmamıştır. Farmakolojik tedavinin hedefi birçok farklı basamakları ve komponentleri olan ikincil hasara yönelik olmaya devam etmektedir.

Çalışmamızda omuriliğe tam kat anevrizma klibi kompresyonu uygulayarak spinal kord hasarı oluşturduk. Sweet ve Allen 1913 yılında, köpeklerde kontüzyon tipi omurilik hasarı oluşturarak bu konuda ilk çalışmayı yapmıştır.

Myelotomi ve posttravmatik hematomyelinin kaldırılması ile nörolojik durumda iyileşme sağlayabilmeleri daha önceki deneysel çalışmaları belirli kriterlere bağladığı gibi devamında yapılacak çalışmalara da ikincil hasar konsepti açısından öncülük etmiştir (116).

Yapılan bir çalışmada omurilik kontüzyonu sonrası intraperitoneal tek doz fare anti-fare IL-6 reseptör monoklonal antikoru (MR16-1) verilen sıçanlarda IL-6 ilişkili immün yanıtın baskılandığı, astrogliozis gelişiminin inhibe olduğu ve motor muayenelerinde gelişme olduğu kaydedilmiştir (117).

Tosilizumab romatoid artrit, Castleman hastalığı, juvenil romatoid artrit ve inflamatuvar barsak hastalığı gibi durumlarda yararlı etkileri olan bir IL-6 reseptör blokeridir (118). Tosilizumabın B hücre ve T hücre fonksiyonunu etkileyerek otoimmün hastalıklarda da etkin olduğu ortaya konulmuştur (86). Tosilizumab bu etkilerini IL-6 reseptör agonisti olarak bu sitokinin etkilerini baskılayarak sağlamaktadır (84,85).

Çalışmamızda AOY sıçan modelinde daha önce çalışılmamış olan antiinflamatuvar etkisi iyi bilinen tosilizumab kullanılmıştır. Tosilizumabın düşük ve yüksek doz etkilerinin farklı olabileceği düşünülerek iki farklı sıçan grubu oluşturulmuştur. Düşük doz olarak 4 mg/kg verildiğinde yarılanma ömrünün 11 gün, 8 mg/kg olarak verildiğinde yarılanma ömrünün 13 gün olması göz önüne alınarak doz ayarlaması yapılmıştır. Tosilizumab sıçanlara intraperitoneal uygulanmıştır. Tosilizumabın klinik iyileşme üzerine olan etkisi ise bugüne kadar çokça çalışmada kullanılan eğik düzlem testi ve Drummond Moore kriterleri ile değerlendirilmiştir. Ayrıca hematoksilen eozin boyaması ile doku bütünlüğü ve yapısı, Cleaved caspase 3 immunohistokimyasal boyama yöntemiyle de apoptoza giden hücrelerin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Eğik düzlem açısı injury ve metil prednizolon 30 mg grubunda kontrol grubuna göre düşükken, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında kontrol grubuna benzer görülmüştür. İnjury ve metil prednizolon 30 mg grupları birbirine benzer görülmüşken tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının eğik düzlem açıları injury grubuna göre yüksek görülmüştür. Tosilizumab4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında eğik düzlem açısının metil prednizolon 30 mg grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının

birbiri arasında ise eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu durum tosilizumabın eğik düzlemde yürümeyi arttırdığını, motor muayenede iyileşme sağladığını ve metil prednizolon 30 mg' dan daha üstün olduğunu göstermektedir. Bu etkinin ancak 7. günde ortaya çıktığı ve doza bağımlı olmadığı görülmüştür. Drummond ve Moore kriterlerine göre yapılan değerlendirme sonucunda injury ve metil prednizolon 30 mg kontrol grubundan düşük iken Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg grupları kontrol grubuna benzer bulunmuştur. Bu durum D&M kriterlerine göre tosilizumabın motor muayenede iyileşme sağladığını göstermektedir. Bununla birlikte tedavi gruplarının klinik olarak iyileşme kaydettiği gözlenmesine karşın bu farkın injury grubuna göre istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşamadığı görülmüştür(119,120). Bu durumun D&M kriterlerinin ölçüm skalası ve denek sayısına bağlı olarak ortaya çıkabileceği düşünülmekte olup, hayvan sayısının artması veya tedavi süresinin daha uzun olması durumunda istatistiksel olarak da kanıtlanabilir seviyeye ulaşabileceğini düşünmekteyiz (121,122).

Hematoksilen&Eozin boyaması ile medulla spinalis morfolojik değişiklikleri değerlendirilmiştir. İnjury grubunun glial hücre nükleuslarında küçülme ve yoğunlaşma; motor nöronlarda ise sitoplazmanın büzüldüğü, nükleusların yoğunlaştığı ve çoğu hücrede seçilemediği, hücre uzantılarının düzensizleştiği, bazı hücrelerin dejenere olduğu saptanırken metil prednizolon 30 mg grubunda motor nöronlarının sitoplazmalarında büzülmenin daha az olduğu, nükleus ve nükleolusların ayırt edilebildiği ve hücre uzantılarının İnjury grubuna göre daha düzenli olduğu saptandı. Tosilizumab 4 mg ve 8 mg gruplarında ise glial hücre nükleuslarının rahatlıkla seçilebildiği, motor nöronların sitoplazmalarının normal, nukleus ve nükleolusları ayırt edilebilir ve hücre uzantılarının normal olduğu saptandı. Bu bulgular tosilizumabın nekrozu azalttığını ve histopatolojik düzeyde de fark yaratacak anlamda iyileşmeyi sağladığını göstermektedir.

Cleaved Caspase 3 immünohistokimyasal boyaması ile apoptoza giden hücrelerin gösterilmesi amaçlanmıştır. İnjury grubunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonu çok yoğun pozitif ve birçok motor nöronun hem sitoplazması hem de nükleusunda ekspre olurken, kontrol grubunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonu çok zayıf ve motor nöronlarda negatif olduğu saptandı. Metil prednizolon 30 mg grubunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonu İnjury grubuna göre daha düşük izlendi.

Tosilizumab 4 mg grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu metil prednizolon 30 mg grubuna göre daha da azalmış, sadece motor nöronlarda çok zayıf pozitif olarak sitoplazmada gözlemlendi. Glial hücrelerde ise negatif olarak gözlemlendi. Tosilizumab 8 mg grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu diğer gruplara kıyasla daha da düşük görüldü ve kontrol grubuna en yakın boyama izlendi. Cleaved Caspase 3 ekspresyonu motor nöronlar ve glial hücrelerde negatif iken nöronların sitoplazmik uzantılarında çok zayıf gözlemlendi. Wagner ve ark. yaptığı deneysel çalışmada orta serebral arter iskemisi sonrası etkilenen korteks alanı MAP-2-immünoreaktif nöropilin tamamen kaybıyla açıkça tanımlanabilmiş ve etkilenen hemisferde Cleaved Caspase 3 ekspresyonu yaygın olarak görülmüştür. İskemik hücrelerde nüklear ve sitoplazmik Cleaved Caspase 3 ekspresyonunun ileri düzeyde olduğu gözlemlenmiştir (123) . Çalışmamızda tosilizumab ile Cleaved Caspase 3 ekspresyonundaki azalma, tedavinin hücre düzeyindeki hasarı geriye çevirdiğini göstermektedir.

Çalışmamızdaki asıl amaç cerrahi ve tıbbi tedaviye yardımcı olabilecek ek tedavi ajanı tanımlamaktır. Dolayısıyla tosilizumabın AOY tedavisinde faydalı olabileceği bu çalışmayla gösterilmiştir. Ancak çalışmamızın geliştirilmiş daha büyük denek sayıları ve kan-doku IL-6 değerlerinin ölçülebildiği kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Bu sonuçlara göre AOY’ de tosilizumabın birincil hasar ile oluşan ödem, iskemik, membran hasarı gibi morfolojik bulguları düzelttiği Hematoksilin&Eozin boyaması ile görülmüştür. Bunun yanında ikincil hasarda Cleaved Caspase 3 ün özellikle nüklear ekspresyonu ile apoptozun azaldığı gösterilmiştir. Eğik düzlemde ve D&M değerlendirmelerinde ortaya çıkan motor iyileşmenin tosilizumabın antiinflamatuvar, antiapoptotik ve immünregulator etkilerinin bir sonucu olduğunu düşünüyoruz.

## 6. SONUÇLAR

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Hayvan Laboratuvarı'nda Ocak 2023 döneminde yapıldı. Kullanılan denekler Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden elde edildi. Denek olarak yaklaşık 3 aylık, 200-250 gr ağırlığında toplam 30 adet Sprague Dawley cinsi dişi erişkin sıçan kullanıldı.

- 1- Tüm deneklerin motor muayenesi 1, 3 ve 7. günde eğik düzlem açıları ve Drummond ve Moore kriterleri ile değerlendirildi.
- 2- Eğik düzlem açılarının 1. Gün değerleri bakımından injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının tümü kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p=0,032$ ;  $p=0,003$ ;  $p=0,041$  ve  $p=0,044$ ).
- 3- Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 1.gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.
- 4- Eğik düzlem açısı 3. Gün değerleri bakımından injury ve metil prednizolon

30 mg gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p=0,002$ ).

- 5- Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında ise eğik düzlem açısı bakımından sham grubu ile anlamlı bir farklılık görülmemiştir (sırasıyla  $p=0,354$  ve  $p=0,636$ ).
- 6- Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 3.gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.
- 7- Eğik düzlem açısı 7. Gün değerleri bakımından injury ve metil prednizolon 30 mg gruplarında eğik düzlem açısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p=0,007$ ).
- 8- Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında ise eğik düzlem açısı bakımından kontrol grubu ile anlamlı bir farklılık görülmemiştir (sırasıyla  $p=0,433$  ve  $p=0,845$ ).
- 9- Injury ve metil prednizolon 30 mg grupları birbirine benzer bulunurken, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında ise eğik düzlem açısının injury grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür.
- 10- Tosilizumab 4 mg grubunda eğik düzlem açısı injury grubuna göre daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel anlamlılık göstermediği ( $p=0,074$ ) bulunurken, tosilizumab 8 mg grubunda ise eğik düzlem açısının injury grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p=0,029$ ).
- 11- Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında eğik düzlem açısının metil prednizolon 30 mg grubuna göre daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel anlamlılık göstermediği saptanmıştır.
- 12- Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 7.gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.
- 13- D&M kriterleri bakımından 1.günde injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının tümü kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p=0,018$ ;  $p=0,018$ ;  $p=0,018$  ve  $p=0,001$ ).
- 14- Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg

gruplarının birbiri arasında ise 1.gün D&M kriteri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

15- D&M kriterleri bakımından 3.günde injury, metil prednizolon 30 mg ve tosilizumab 4 mg grupları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p=0,004$ ;  $p=0,016$  ve  $p=0,004$ ).

16- Tosilizumab 8 mg grubunda ise D&M kriteri sham grubuna benzer bulunmuştur ( $p=0,238$ ).

17- Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 3.gün D&M kriteri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

18- D&M kriterleri bakımından 7.günde injury ve metil prednizolon 30 mg grupları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p=0,014$ ).

19- Tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarında ise D&M kriteri kontrol grubuna benzer bulunmuştur (her iki  $p=0,153$ ).

20- Injury, metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında ise 7.gün D&M kriteri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

21- Histopatolojik inceleme için 8. Gün sakrifiye edilen sıçanlardan kontrol grubunda glial hücrelerin nüklear yapısında, motor nöronların stoplazmik yapısı, uzantıları ve nukleusunda herhangi bir anormal değişikliğe rastlanmadı.

22- Sham grubunun glial hücre nükleuslarında küçülme ve yoğunlaşma, motor nöronlarda ise sitoplazmanın büzüldüğü, nükleusların yoğunlaştığı ve çoğu hücrede seçilemediği ve hücre uzantılarının düzensizleştiği, bazı hücrelerin dejenere olduğu saptandı.

23- Metil prednizolon 30 mg grubundaki glial hücre nükleusları sham grubuna göre daha iyi seçilebiliyorken bu grubun motor nöronlarının sitoplazmalarında büzülme daha azdı, nükleus ve nükleolusları ayırt edilebiliyordu ve hücre uzantıları sham grubuna göre daha düzenliydi.

24- Tosilizumab 4 mg grubu Tosilizumab 8 mg grubu glial hücreleri nükleusları rahatlıkla seçilebiliyordu. Her iki grup motor nöronların

sitoplazmaları normal, nükelus ve nükleolusları ayırt edilebiliyor ve hücre uzantıları normaldi.

- 25- İmmünohistokimya açısından değerlendirildiğinde kontrol grubunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonu çok zayıftı ve motor nöronlarda negatifti.
- 26- Sham grubunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonu çok yoğun pozitif ve birçok motor nöronun hem sitoplazması hem de nükleusunda ekspre oldu. Bazı glial hücrelerinde nükleusunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonu yoğun şekilde gözlendi.
- 27- Metil prednizolon 30 mg grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu sham grubuna göre daha düşüktü. Özellikle sham grubu motor nöronlarda gözlenen Cleaved Caspase 3 ekspresyonu metil prednizolon 30 mg grubunda azaldı.
- 28- Tosilizumab 4 mg grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu metil prednizolon 30 mg grubuna göre daha da azalmıştır. Tosilizumab 4 mg grubunda sadece motor nöronlarda çok zayıf pozitif olarak sadece sitoplazmada gözlendi. Glial hücrelerde ise negatif olarak gözlendi.
- 29- Tosilizumab 8 mg grubu Cleaved Caspase 3 ekspresyonu diğer gruplara kıyasla daha da düşüktü ve kontrol grubuna en yakın olan gruptu. Cleaved Caspase 3 ekspresyonu motor nöronlar ve glial hücrelerde negatif iken nöronların sitoplazmik uzantılarında çok zayıf gözlendi.
- 30- İHC değerleri tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı bulunmuştur ( $p<0,001$ ). En düşük İHC değeri kontrol grubunda iken injury grubunda ise en yüksek düzeyde olduğu görülmüştür.
- 31- Metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının tümünde İHC değerleri injury grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşüktür (tüm  $p<0,001$ ).
- 32- Metil prednizolon 30 mg, tosilizumab 4 mg ve tosilizumab 8 mg gruplarının birbiri arasında da İHC değerlerinin anlamlı farklılık gösterdiği ve bu gruplar arasında en yüksek İHC düzeyi metil prednizolon 30 mg grubunda görülürken tosilizumab 8 mg grubunda ise en düşük düzeyde olduğu görülmüştür (tüm  $p<0,001$ ).

**Sonuç olarak;** Yapılan bu çalışmada asıl amaç AOY tedavisi için tek başına bir

yöntem geliştirmek olmamakla beraber medikal ve cerrahi tedavi sürecine destek olabilecek bir ajanı ortaya koymaktır. Bu alışma sonuçları ile beraber değerlendirildiğinde ve spinal kord travma modelinde daha önce tosilizumabın kullanılmadığı da göz önüne alındığında tosilizumabın AOY’ de yararlı olabileceği tespit edilmiştir. Fakat daha geniş seriler ile yapılacak gerek laboratuvar gerekse klinik çalışmalar ile bu bulguların desteklenmesi gerekmektedir. Bu alışmalar ışığında tosilizumabın AOY’ de etkin bir tedavi seçeneği olabileceği dışünölmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Bennett J, M Das J, Emmady PD. Spinal Cord Injuries. StatPearls [Internet]. 2022 [cited 2023 Mar 6]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32809556/>
2. Spinal Cord Injury (SCI) 2016 Facts and Figures at a Glance. J Spinal Cord Med. 2016 3;39(4):493–4.
3. Karacan İ, Koyuncu H, Pekel Ö, Sümbüloğlu G, Kırnap M, Dursun H, et al. Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. Spinal Cord. 2000 27;38(11):697–701.
4. Lee BB, Cripps RA, Fitzharris M, Wing PC. The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: update 2011, global incidence rate. Spinal Cord. 2014 26;52(2):110–6.
5. Dimitrijevic MR, Danner SM, Mayr W. Neurocontrol of Movement in Humans With Spinal Cord Injury. Artif Organs. 2015 39(10):823–33.
6. Hughes JT. The Edwin Smith Surgical Papyrus: an analysis of the first case reports of spinal cord injuries. Spinal Cord. 1988 Apr;26(2):71–82.
7. Goodrich JT. History of spine surgery in the ancient and medieval worlds. Neurosurg

- Focus. 2004 16(1):1–13.
8. Donovan WH. Spinal Cord Injury-Past, Present, and Future. *J Spinal Cord Med.* 2007 1;30(2):85–100.
  9. Castro I de, Santos DP dos, Christoph D de H, Landeiro JA. The history of spinal surgery for disc disease: an illustrated timeline. *Arq Neuropsiquiatr.* 2005 63(3a):701–6.
  10. Keller T, Holland MC. Some Notable American Spine Surgeons of the 19th Century. *Spine (Phila Pa 1976).* 1997 22(12):1413–7.
  11. Mohan AL, Das K. History of surgery for the correction of spinal deformity. *Neurosurg Focus.* 2003 14(1):1–5.
  12. Rivlin AS, Tator CH. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg Neurol.* 1978 10(1):38–43.
  13. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://msktc.org/sites/default/files/lib/docs/Data\_Sheets\_/SCIMS\_Facts\_and\_Figures\_2017\_FINAL.pdf [Internet]. NSCISC.
  14. BRUCE M. CARLSON. *human embryology & developmental biology.* 2018.
  15. Gabor Forgacs SAN. *Biological Physics of the Developing Embryo.* 2005.
  16. Richard S. Snell. *SNELL'S CLINICAL NEUROANATOMY.* 2010.
  17. bruce m. carlson. *human embryology & development biology.* 6. edition. elsevier; 2019.
  18. FRANK H. NETTER M. *NETTER ATLAS OF HUMAN ANATOMY. EIGHTH EDITION.* ELSEVIER;
  19. figen gövsa gökmen. *sistematik anatomi.* 2008.
  20. carmine d. clemente. *gray's anatomy.* 1985.
  21. Sirin Y, Keles H, Beşaltı Ö, Vural S. Comparison of ATP-MgCl<sub>2</sub> and Methylprednisolone in Experimentally Induced Spinal Cord Trauma. *Journal of Clinical and Analytical Medicine.* 2012 3:442–7.
  22. Gillilan LA. Veins of the spinal cord: Anatomic details; suggested clinical applications. *Neurology.* 1970 1;20(9):860–860.
  23. Frank H. Ne. *netter atlas of human anatomy.* 8. edition. 2023.
  24. Friedrich Paulsen and Jens Waschke, editor. *Sobotta ATLAS OF ANATOMY.* 16th Edition. Elsevier GmbH, Munich, Germany; 2018.
  25. Gündüz B, Erhan B. Updates in asia examination: Lower extremity motor examination. *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi.* 2015 21;61:S19–24.

26. Kirshblum SC, Biering-Sorensen F, Betz R, Burns S, Donovan W, Graves DE, et al. International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury: Cases with classification challenges. *J Spinal Cord Med.* 2014 21;37(2):120–7.
27. erhan B Gündüz B. Omurilik Yaralanması. Oğuz H ÇHYB, editor. Nobel Tıp Kitabevleri; 2015. 461–478 p.
28. Nowak DD, Lee JK, Gelb DE, Poelstra KA, Ludwig SC. Central Cord Syndrome. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons.* 2009 17(12):756–65.
29. Wiginton JG, Brazdzionis J, Mohrdar C, Sweiss R, Lawandy S. Spinal Cord Reperfusion Injury: Case Report, Review of the Literature, and Future Treatment Strategies. *Cureus.* 2019 30;11(7):e5279.
30. Roth EJ, Lawler MH, Yarkony GM. Traumatic central cord syndrome: clinical features and functional outcomes. *Arch Phys Med Rehabil.* 1990 71(1):18–23.
31. Moskowitz E, Schroepel T. Brown-Sequard syndrome. *Trauma Surg Acute Care Open.* 2018 20;3(1):e000169.
32. Wirz M, Zörner B, Rupp R, Dietz V. Outcome after incomplete spinal cord injury: central cord versus Brown-Sequard syndrome. *Spinal Cord.* 2010 48(5):407–14.
33. Pearl NA, Dubensky L. Anterior Cord Syndrome. 2022.
34. Nedeltchev K, Loher TJ, Stepper F, Arnold M, Schroth G, Mattle HP, et al. Long-term outcome of acute spinal cord ischemia syndrome. *Stroke.* 2004 35(2):560–5.
35. Robertson CE, Brown RD, Wijdicks EFM, Rabinstein AA. Recovery after spinal cord infarcts: long-term outcome in 115 patients. *Neurology.* 2012 10;78(2):114–21.
36. Lavy C, Marks P, Dangas K, Todd N. Cauda equina syndrome—a practical guide to definition and classification. *Int Orthop.* 2022 4;46(2):165–9.
37. Kaya AKSOY, editor. Temel Nöroşirurji CİLT-2 . 1. baskı. ANKARA: türk nöroşirurji derneği yayınları; 2005. 1161–1161 p.
38. Chiu PY, Liao JC. Surgical outcomes in thoracolumbar fractures with pure conus medullaris syndrome. *Biomed J.* 2019 42(4):277–84.
39. Hoşnüter M, Gürel A, Babuççu O, Armutcu F, Kargı E, Işıkdemir A. The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns.* 2004 Mar 1;30(2):121–5.
40. Merih iş 1 Mustafa Onur ULU 2 Taner TANRIVERDi 3 Hakan YILDIZ 4 Fevzullah AKYÜZ 5 Aylin AKSOY 6 Ferruh GEZEN The Use of Methylprednisolone, Vitamin E and Their Combination in Acute Spinal Cord Injury: An Experimental Study Akut Omurilik Yaralanmasında Vitamin E, Metilprednizolon ve Kombinasyonunun Kullanımı: Deneysel Çalışma.

41. Margaret Esiri WSDP. Oppenheimer's Diagnostic Neuropathology. 3rd Edition. 2012. 51–61 p.
42. Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. Neurochirurgie [Internet]. 1991 Jan 1 [cited 2023 Mar 17];37(5):291–302. Available from: <https://europepmc.org/article/med/1758561>
43. Nemecek S. Morphological evidence of microcirculatory disturbances in experimental spinal cord trauma. Adv Neurol. 1978;20:395–405.
44. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, et al. Acute Spinal Cord Injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. Clin Neuropharmacol. 2001 Sep;24(5):254–64.
45. Puniak MA, Freeman GM, Agresta CA, Newkirk L VAN, Barone CA, Salzman SK. Comparison of a Serotonin Antagonist, Opioid Antagonist, and TRH Analog for the Acute Treatment of Experimental Spinal Trauma. J Neurotrauma. 1991 8(3):193–203.
46. Kaptanoğlu E Tchoysnk Stratejileri İzmöf. Omurilik ve Omurga Cerrahisi. Vol. 2. baskı. 2002. 813–832 p.
47. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. J Neurosurg. 1991 75(1):15–26.
48. Dohrmann GJ, Wagner FC, Bucy PC. The microvasculature in transitory traumatic paraplegia. J Neurosurg. 1971 35(3):263–71.
49. 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. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/Evoked Potentials Section. 1989 74(4):241–59.
50. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and Pharmacological Strategies for Mitigating Secondary Damage in Acute Spinal Cord Injury. Neurosurgery. 1999 44(5):1027–39.
51. Uzan M. Medulla spinalis yaralanmalarında fizyopatoloji, Medulla Spinalis Yaralanmaları. Ed. Hancı M AÖ, editor. logos yayıncılık; 2000. 152–161 p.
52. Zileli M. Omurilik yaralanmasının farmakolojik tedavisi. Omurilik ve Omurga Cerrahisi. 2. baskı. Ed. Zileli M ÖA, editor. Saray Medikal yayıncılık, İzmir; 2002. 833–840 p.
53. Choi DW. Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage. Trends Neurosci. 1988 11(10):465–9.
54. Faden AI, Lemke M, Simon RP, Noble LJ. N -Methyl-d-Aspartate Antagonist MK801 Improves Outcome Following Traumatic Spinal Cord Injury in Rats:

- Behavioral, Anatomic, and Neurochemical Studies. *J Neurotrauma*. 1988 5(1):33–45.
55. Klusman I, Schwab ME. Effects of pro-inflammatory cytokines in experimental spinal cord injury. *Brain Res*. 1997 762(1–2):173–84.
  56. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wideranging Implications in Tissue Kinetics. *Br J Cancer*. 1972 26(4):239–57.
  57. Charles H. Tator. *neurosurgery*. 2. edition. robert h.wilkins setti s. rengachary, editor. mcgraw-hill; 1996.
  58. Guizar-Sahagun G, Grijalva I, Madrazo I, Franco-Bourland R, Salgado H, Ibarra A, et al. Development of post-traumatic cysts in the spinal cord of rats subjected to severe spinal cord contusion. *Surg Neurol*. 1994 41(3):241–9.
  59. Kaptanoğlu E. *Temel nöroşirurji; Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi*. 1. baskı. Buluş Tasarım ve Matbacılık Hizmetleri,; 2005.
  60. Rawji KS, Kappen J, Tang W, Teo W, Plemel JR, Stys PK, et al. Deficient Surveillance and Phagocytic Activity of Myeloid Cells Within Demyelinated Lesions in Aging Mice Visualized by *Ex Vivo* Live Multiphoton Imaging. *The Journal of Neuroscience*. 2018 21;38(8):1973–88.
  61. Zhang Z, Guth L. Experimental Spinal Cord Injury: Wallerian Degeneration in the Dorsal Column Is Followed by Revascularization, Glial Proliferation, and Nerve Regeneration. *Exp Neurol*. 1997 147(1):159–71.
  62. GuizarSahagun G GIMIFRSHIAOEZA. Development of posttraumatic cysts in the spinal cord of rats subjected to severe spinal cord contusion. *Surg Neurol*, editor. 1994. 241–249 p.
  63. Hardman JM. *Textbook of neuropathology*. Davis RL RD ed, editor. 1997. 1212–1215 p.
  64. MartinezArizala A, GBA, BR. *Experimental spinal cord injury*. Herkowitz HN, GSR, BRA, EFJ, BGR, W, editor. LAP LAMBERT Academic Publishing; 1992. 1247–1276 p.
  65. Zileli M G V. *Deneysel omurilik yaralanması*. Zileli M OAF, editor. İntertıp Yayınevi, İzmir, Türkiye,; 2014. 951–956 p.
  66. Pringle RG. *Effects of Injury on the Spinal Cord*. *Surgery of the Spine*. Findlay G, OR, editor. Blackwell Scientific Publications; 1992. 999–1008 p.
  67. MartinezArizala A, GBA, BRP. *Experimental Spinal Cord Injury: Pathophysiology and Treatment*. *The Spine*. Herkowitz HN, GSR, BRA, EFJ, BGR, WSWPhiladelphiaWBS, editor. 1992. 1247–1276 p.
  68. Khan M, Griebel R. *Acute Spinal Cord Injury in the Rat: Comparison of Three*

- Experimental Techniques. *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques*. 1983 18;10(3):161–5.
69. Teke Z, Bostanci EB, Yenisey C, Sacar M, Simsek NG, Akoglu M. Caffeic Acid Phenethyl Ester Alleviates Mesenteric Ischemia/Reperfusion Injury. *Journal of Investigative Surgery*. 2012 7;25(6):354–65.
70. Neirinckx V, Cantinieaux D, Coste C, Rogister B, Franzen R, Wislet-Gendebien S. Concise Review: Spinal Cord Injuries: How Could Adult Mesenchymal and Neural Crest Stem Cells Take Up the Challenge? *Stem Cells*. 2014 1;32(4):829–43.
71. Grulova I, Slovinska L, Nagyova M, Cizek M, Cizkova D. The effect of hypothermia on sensory-motor function and tissue sparing after spinal cord injury. *The Spine Journal*. 2013 13(12):1881–91.
72. Fehlings MG, Tator CH. An evidence-based review of decompressive surgery in acute spinal cord injury: rationale, indications, and timing based on experimental and clinical studies. *J Neurosurg Spine*. 1999 91(1):1–11.
73. Avcı ÇB, Gündüz C, Baran Y, Şahin F, Yılmaz S, Dogan ZO, et al. Caffeic acid phenethyl ester triggers apoptosis through induction of loss of mitochondrial membrane potential in CCRF-CEM cells. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2011 10;137(1):41–7.
74. Tuma RF, Vasthare US, Arfors KE, Young WF. Hypertonic Saline Administration Attenuates Spinal Cord Injury. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*. 1997 42(Supplement):54S-60S.
75. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. Vol. 4, *Spine Journal*. 2004. p. 451–64.
76. Ismailoglu Ö, Oral B, Tomruk Ö, Sütcü R, Kara Y, Demir N. Neuroprotective Effects of Raloxifene on Experimental Spinal Cord Injury in Rats. *Am J Med Sci*. 2013 345(1):39–44.
77. Bakar B, Kose EA, Kupana Ayva S, Sarkarati B, Kasimcan MO, Kilinc K. Effects of low-dose methotrexate in spinal cord injury in rats. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2013;19(4):285–93.
78. Kaptanoglu E, Beskonakli E, Solaroglu I, Kilinc A, Taskin Y. Magnesium sulfate treatment in experimental spinal cord injury: emphasis on vascular changes and early clinical results. *Neurosurg Rev*. 2003 1;26(4):283–7.
79. Chen G, Zhang Z, Wang S, LV D. Combined treatment with FK506 and nerve growth factor for spinal cord injury in rats. *Exp Ther Med*. 2013 6(4):868–72.

80. İlhan A, Akyol O, Gurel A, Armutcu F, Iraz M, Oztas E. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester against experimental allergic encephalomyelitis-induced oxidative stress in rats. *Free Radic Biol Med.* 2004 37(3):386–94.
81. Rosenberg LJ, Teng YD, Wrathall JR. Effects of the Sodium Channel Blocker Tetrodotoxin on Acute White Matter Pathology After Experimental Contusive Spinal Cord Injury. *The Journal of Neuroscience.* 1999 15;19(14):6122–33.
82. Tator CH. Strategies for recovery and regeneration after brain and spinal cord injury. *Injury Prevention.* 2002 1;8(90004):33iv–36.
83. Nekoui A, Blaise G. Erythropoietin and Nonhematopoietic Effects. *Am J Med Sci.* 2017 353(1):76–81.
84. Licinio L Kmhp. Cytokines and brain function: relevance of interferon -  $\alpha$  induced mood and cognitive changes. *Semin Oncol.* 1998;25–38.
85. Twardy D Mpage. Monokine modulation of human astroglial cell production of granulocyte colony -stimulating factor and granulocyte -macrophage colony stimulating factor, I: e ffects of IL-1 $\alpha$  and IL-1s. *J Immunol .* 1990;2233–41.
86. Kaly L, Rosner I. Tocilizumab – A novel therapy for non-organ-specific autoimmune diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2012 26(1):157–65.
87. Karatas Y, Erdi MF, Kaya B, Keskin F, Cüce G, Kılınc I, et al. Neuroprotective Effects of Tocilizumab on Experimentally-Induced Spinal Cord Ischemia-Reperfusion Injury. *World Neurosurg.* 2019 124:e208–13.
88. Bertram G. Katzung MP. Temel ve Klinik Farmakoloji. Susan B. Masters PAJTP, editor. nobel tıp kitabevleri; 2016. 647–647 p.
89. Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie.* 1991; 37: 295–302 p.
90. Kaptanoğlu E. Omurilik yaralanması ve değerlendirilmesi, Temel Nöroşirürji. Aksoy K, editor. ankara: Türk Nöroşirürji Derneği yayınları; 2005. 1144–1162 p.
91. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg.* 1991 75(1):15–26.
92. Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie.* 1991;37(5):291–302.
93. Oyınbo CA. Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2011;71(2):281–99.
94. Hausmann ON. Post-traumatic inflammation following spinal cord injury. *Spinal Cord.* 2003 25;41(7):369–78.
95. Profyris C, Cheema SS, Zang D, Azari MF, Boyle K, Petratos S. Degenerative and

- regenerative mechanisms governing spinal cord injury. *Neurobiol Dis.* 2004 15(3):415–36.
96. Fehlings MG, Nguyen DH. Immunoglobulin G: A Potential Treatment to Attenuate Neuroinflammation Following Spinal Cord Injury. *J Clin Immunol.* 2010 1;30(S1):109–12.
  97. Whetstone WD, Hsu JYC, Eisenberg M, Werb Z, Noble-Haeusslein LJ. Blood-spinal cord barrier after spinal cord injury: Relation to revascularization and wound healing. *J Neurosci Res.* 2003 15;74(2):227–39.
  98. Yakovlev AG, Faden AI. Sequential expression of c-fos protooncogene, TNF-alpha, and dynorphin genes in spinal cord following experimental traumatic injury. *Mol Chem Neuropathol.* 1994 23(2–3):179–90.
  99. Paterniti I, Genovese T, Crisafulli C, Mazzon E, Di Paola R, Galuppo M, et al. Treatment with green tea extract attenuates secondary inflammatory response in an experimental model of spinal cord trauma. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2009 1;380(2):179–92.
  100. Saikumar P, Dong Z, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Mechanisms of cell death in hypoxia/reoxygenation injury. *Oncogene.* 1998 24;17(25):3341–9.
  101. Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cell Signal.* 2003 15(11):983–92.
  102. Adams JM, Cory S. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. *Trends Biochem Sci.* 2001 26(1):61–6.
  103. Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, Bethea JR, Krajewski S, Reed JC, et al. Apoptotic and Anti-Apoptotic Mechanisms Following Spinal Cord Injury. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2001 1;60(5):422–9.
  104. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, et al. Acute Spinal Cord Injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. *Clin Neuropharmacol.* 2001 24(5):254–64.
  105. Lea PM, Faden AI. Modulation of metabotropic glutamate receptors as potential treatment for acute and chronic neurodegenerative disorders. *Drug News Perspect.* 2003;16(8):513.
  106. Chabrier PE, Demerlé-Pallardy C, Auguet M. Nitric oxide synthases: targets for therapeutic strategies in neurological diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 1999;55(9):1029.
  107. Blantz, Satriano, Gabbai, Kelly. Biological effects of arginine metabolites. *Acta Physiol Scand.* 2000 24;168(1):21–5.

108. Liu C, Jin A, Zhou C, Chen B. Gene expression of inducible nitric oxide synthase in injured spinal cord tissue. *Chin J Traumatol*. 2001 4(4):231–3.
109. Rossignol S, Schwab M, Schwartz M, Fehlings MG. Spinal cord injury: time to move? *J Neurosci*. 2007 31;27(44):11782–92.
110. Lou J, Lenke LG, Ludwig FJ, O'Brien MF. Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal Cord*. 1998 30;36(10):683–90.
111. Shan L qun, Ma S, Qiu X chun, Zhou Y, Zhang Y, Zheng L he, et al. Hydroxysafflor Yellow A protects spinal cords from ischemia/reperfusion injury in rabbits. *BMC Neurosci*. 2010 13;11(1):98.
112. Popovich PG, Guan Z, Wei P, Huitinga I, van Rooijen N, Stokes BT. Depletion of Hematogenous Macrophages Promotes Partial Hindlimb Recovery and Neuroanatomical Repair after Experimental Spinal Cord Injury. *Exp Neurol*. 1999 158(2):351–65.
113. Nehrt A, Rodgers R, Shapiro S, Borgens R, Shi R. The critical role of voltage-dependent calcium channel in axonal repair following mechanical trauma. *Neuroscience*. 2007 Jun;146(4):1504–12.
114. Baptiste DC, Fehlings MG. Pharmacological Approaches To Repair the Injured Spinal Cord. *J Neurotrauma*. 2006 23(3–4):318–34.
115. Topsakal C, Erol FS, Ozveren MF, Yilmaz N, Ilhan N. Effects of methylprednisolone and dextromethorphan on lipid peroxidation in an experimental model of spinal cord injury. *Neurosurg Rev*. 2002 25(4):258–66.
116. SWEET JE, ALLEN AR. THE EFFECT OF THE REMOVAL OF THE HYPOPHYSIS IN THE DOG. *Ann Surg*. 1913 57(4):485–91.
117. Okada S, Nakamura M, Mikami Y, Shimazaki T, Mihara M, Ohsugi Y, et al. Blockade of interleukin-6 receptor suppresses reactive astrogliosis and ameliorates functional recovery in experimental spinal cord injury. *J Neurosci Res*. 2004 15;76(2):265–76.
118. Dhillon S. Intravenous Tocilizumab: A Review of Its Use in Adults with Rheumatoid Arthritis. *BioDrugs*. 2014 20;28(1):75–106.
119. Sharma H. Statistical significance or clinical significance? A researcher's dilemma for appropriate interpretation of research results. *Saudi J Anaesth*. 2021;15(4):431.
120. Fethney J. Statistical and clinical significance, and how to use confidence intervals to help interpret both. *Australian Critical Care*. 2010 23(2):93–7.
121. Fitts DA. Ethics and animal numbers: informal analyses, uncertain sample sizes,

- inefficient replications, and type I errors. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2011 50(4):445–53.
122. Charan J, Kantharia ND. How to calculate sample size in animal studies? *J Pharmacol Pharmacother*. 2013 11;4(4):303–6.
123. Wagner DC, Riegelsberger UM, Michalk S, Härtig W, Kranz A, Boltze J. Cleaved caspase-3 expression after experimental stroke exhibits different phenotypes and is predominantly non-apoptotic. *Brain Res*. 2011 1381:237–42.

