



**T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

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

**TIPTA UZMANLIK TEZİ  
DR. DOĞAN ŞENSOY**

**DÜZCE-2021**

**T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI**

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

**DR. DOĞAN ŞENSOY  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DOÇ. DR. ÖMER POLAT**

**TEZ DANIŞMANI**

**DR.ÖĞR.ÜYESİ GÜVEN KILIÇ**

**EŞ DANIŞMAN**

**DÜZCE-2021**

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (Etik Kurul Karar Numarası: 2020 /11/03 ,Toplantı Tarihi:16.11.2020)

## ÖNSÖZ

Asistanlık sürecimde her zaman yanımda olup, bana el veren, cerrahlığa olan sevgimi daha da artıran, her halini örnek aldığım tezimde danışmanlığımı yürüten sayın hocam Doç. Dr. Ömer POLAT'a, aynı şekilde tez danışmanlığımı yürüten sayın hocam Dr. Öğr Üyesi Güven KILIÇ'a ve asistanlığımın ilk yıllarındaki hem pratik hem teorik deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr Uygur ER, Doç. Dr Cengiz TUNCER ve Doç. Dr Cem DİNÇ'e, ayrıca histoloji anabilim dalı hocalarımız Dr. Öğr. Üyesi Kayıhan KARAÇOR, Dr. Öğr. Üyesi Hakan SOYLU'ya, Biyoistatistik anabilim dalı hocamız Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali SUNGUR'a ,DÜDAM'da bana desteklerini esirgemeyen veterinerhekim Ali GÖK ve değerli ekip arkadaşım Dr.MuammerYAKUPOĞLU'na beraber çalışmaktan keyif aldığım servis, ameliyathane hemşire ve personellerine çok teşekkür ediyorum.

Bu çalışmada maddi olarak desteklerini esirgemeyen Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunuyorum.

Beni bugünlere getiren her türlü desteğini esirgemeyen canım annem ve babam Nurten - Erdoğan ŞENSOY'a ve yaşadığım ildeki desteğim Osman Emrah ŞENSOY ve bana nöroşirurjiyi önerdiği için her zaman teşekkür ettiğim Uzm. Dr Halit ŞENSOY'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca bu zorlu süreçte bana her türlü desteği veren, çocuklarıma hem anne hem baba olan ,tek kaldığım dönemlerde dahi beni yüreklendiren sevgili eşim Ayşin'e, oğullarım Ozan ve Mustafa'ya sevgilerimi sunuyorum.

Dr. Doğan ŞENSOY

## ÖZET

Retinoidler hücre büyümesini ve farklılaşmasını değiştirir. İzotretinoin, retinoik asidin aktif metabolitidir. Akne tedavisinde etkili ve remisyon süresi uzun bir ilaçtır. Şiddetli akne, diğer tedavilere yanıtı olmayan orta şiddetli akne ve skar bırakma eğilimi olan akne kullanılır. Akne tedavisinde bilinen etkilerinin yanı sıra doğal bağışıklık sistemini stimüle ettiği, T hücre cevabını azalttığı ve anti-inflamatuvar etki gösterdiği bilinmektedir. Çalışmamızda hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozu modüle eden çok sayıda genin ekspresyonunun kontrolü yoluyla omurgalı dokularının normal gelişiminde önemli bir rol oynayan A vitamini türevi olan isotretinoinin, akut omurilik yaralanması (AOY) ile oluşan hasarda nöral doku üzerinde olumlu etkisinin olup olmadığının değerlendirilmesini amaçladık.

Deney ortamındaki düzenek yardımıyla sıçanlarda omurilik hasarlanması oluşturuldu. Travmayı takiben sıçanlara düşük ve yüksek doz isotretinoin gavaj şeklinde verildi. İzotretinoin tedavisinin kısa ve uzun dönemde farklı sonuçlar oluşturabileceği göze alınarak sıçanların 6'sı 2. haftanın sonunda, diğerleri ise 4. haftanın sonunda kurban edilerek patolojik inceleme yapıldı. Sonuçlar omuriliği hasarlanmış ancak isotretinoin verilmeyen sıçanların sonuçları ile karşılaştırıldı.

Eğik düzlem, Drummond ve Moore Kriterleri, Hemotoksilen-eozin, Luxol fast ve Cleavedcaspase 3 immunohistokimyasal boyamasının sonuçlarına göre isotretinoin AOY ile oluşan hasarın giderilmesinde etkili bulunmuştur. Tedavi süresi uzadığında ve tedavi dozu yükseldiğinde bu etkinin arttığı izlenmiştir.

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

**Anahtar kelimeler:** Isotretinoin, Akut omurilik yaralanması, Antiinflamatuvar

## **ABSTRACT**

Retinoids alter cell growth and differentiation. Isotretinoin is the active metabolite of retinoic acid. It is a drug that is effective in the treatment of acne and has a long remission period. It is used in severe acne, moderate acne unresponsive to other treatments, and acne with a tendency to scarring. In addition to its known effects in the treatment of acne, it is known that it stimulates the natural immune system, reduces the T cell response and has an anti-inflammatory effect. In our study, we aimed to evaluate whether isotretinoin, vitamin A derivative, which plays an important role in the normal development of vertebrate tissues by controlling the expression of many genes that modulate cell proliferation, differentiation and apoptosis, has a positive effect on neural tissue in damage caused by acute spinal cord injury (ASCI).

With the help of the apparatus in the experimental environment, spinal cord injury was created in rats. Following trauma, rats were given low and high dose isotretinoin by gavage. Considering that isotretinoin treatment may produce different results in the short and long term, 6 of the rats were sacrificed at the end of the 2nd week and the others at the end of the 4th week, and pathological examination was performed. The results were compared with those of rats with spinal cord injury but not given isotretinoin.

According to the results of inclined plane, Drummond and Moore Criteria, Hematoxylin-eosin, Luxol fast and Cleaved caspase 3 immunohistochemical staining, isotretinoin was found to be effective in removing the damage caused by ASCI. It has been observed that this effect increases when the duration of treatment is prolonged and the treatment dose is increased.

It has been observed that isotretinoin 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:** Isotretinoin, Acute spinal cord injury, Anti-inflammatory

# İÇİNDEKİLER

	Sayfalar
Önsöz.....	i
Özet.....	ii
Abstract.....	iii
İçindekiler.....	iv
Simgeler ve Kısaltmalar.....	vii
Tablo Dizini.....	viii
Şekil Dizini.....	ix
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	2
2.1 Akut Omurilik Yaralanması ve Medulla Spinalis (MS).....	2
2.1.1 Akut Omurilik Yaralanmasının Tarihçesi ve Epidemiyolojisi.....	2
2.1.2 Spinal Kord Embriyolojisi ve Anatomisi.....	2
2.1.3 Deneysel Omurilik Travma Modelleri.....	5
2.1.4 Akut Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi.....	7
2.1.4.1 Birincil hasar.....	8
2.1.4.2 İkincil hasar.....	8
2.1.4.2.1 Sistemik etkiler.....	10
2.1.4.2.2 Lokal kan dolaşımı ile ilgili etkiler.....	10
2.1.4.2.3 Glutamat eksitotoksitesisi.....	11
2.1.4.2.4 Elektrolitler ile ilişkili sekonder yaralanma.....	12
2.1.4.2.5 Apoptoz a) Ekstrinsik yol b) İnstrinsik yol.....	12
2.1.4.2.6 İmmun sistem ilişkili spinal kord hasarı.....	13
2.1.4.2.7 İkincil hasarda mitokondrinin etkisi.....	14
2.1.4.2.8 Lipid peroksidasyonu ve serbest radikallere bağlı hücrel hasar.....	15
a) Lipid peroksidasyonu b) Serbest radikallere bağlı hücrel hasar.....	15
2.1.4.2.9 Akson demiyelinizasyonu.....	15
2.1.4.2.10 Nitrik oksitin etkisi.....	15
2.1.4.2.11 Yaralanma yerindeki TNF- $\alpha$ etkisi.....	16

2.1.5 Akut Omurilik Yaralanmasının Patolojisi .....	16
2.1.5.1 Erken dönem patolojisi .....	17
2.1.5.2 Subakut dönem patolojisi .....	18
2.1.5.3 Geç dönem patolojisi .....	18
2.1.6 AOY'da Tanı .....	19
2.1.7 AOY'DA Tedavi .....	23
2.1.7.1 Cerrahi tedavi yaklaşımları .....	23
2.1.7.1.1 Dekompresyon .....	23
2.1.7.1.2 Miyelotomi .....	24
2.1.7.1.3 Fetal doku transplantasyonu .....	24
2.1.7.2 Cerrahi olmayan tedavi yaklaşımları .....	24
2.1.7.2.1 Metilprednizolon .....	24
2.1.7.2.2 Gangliozid .....	25
2.1.7.2.3 Tirilazad .....	25
2.1.7.2.4 Eksitator aminoasit antagonistleri .....	25
2.1.7.2.5 Kalsiyum kanal blokerleri .....	25
2.1.7.2.6 Magnezyum .....	26
2.1.7.2.7 Hipotermi .....	26
2.1.7.2.8 Eritropoetin .....	26
2.1.7.2.9 Barbitüratlar .....	26
2.1.7.2.10 İnterlökin .....	26
2.1.7.2.11 Kaspaz inhibitörleri .....	26
2.1.7.2.12 Hiberbarik oksijen tedavisi .....	27
2.2 İsoetretinoin .....	27
2.2.1 Farmakolojik etkisi .....	27
2.2.2 Etki mekanizması .....	27
2.2.3 Kullanım şekli ve dozu .....	28
2.2.4 Yan etkileri .....	28
2.2.5 Santral sinir sistemine etkileri .....	30
2.2.6 Yara iyileşmesindeki rolü .....	31
2.2.7 Tedavinin takibi .....	32
3. MATERYAL ve METOD .....	33
3.1 Deney Grupları .....	33
3.2 Anestezi .....	34

3.3. Cerrahi İşlem.....	34
3.4. İso­tre­ti­noi­n El­de Edil­i­şi ve Veri­li­ş Yöntemi, Sık­lı­ğı.....	36
3.4.1 El­de edil­i­şi.....	36
3.4.2 İso­tre­ti­noi­n veri­li­ş yöntemi ve sık­lı­ğı.....	36
3.5 İyileşmeyi Değerlendirilme Kriterleri .....	37
3.5.1 Eğik düzlem ile değerlendirilmesi.....	37
3.5.2 Drummond Moore kriterleri ile değerlendirme.....	37
3.6 Spesmenin Alınışı.....	38
3.7 Rutin Parafin Takibi ve Boyama Protokolleri.....	39
3.7.1 Rutin parafin takibi.....	39
3.7.2 Hematoksilen-Eozin boyası .....	40
3.7.3 Luxol Fast boyası.....	40
3.7.4 İmmüno histokimyasal boya .....	40
3.8 İstatistiksel Analiz .....	41
3.8.1 Eğik düzlem ve Drummond Moore Kriterleri istatistik analizi.....	41
3.8.2 Histolojik istatistiksel analizler... ..	42
4- BULGULAR.....	43
4.1 Motor Muayene Sonuçları .....	43
4.2 Histopatolojik Bulgular.....	48
4.2.1 Hemotoksilen eozin boyası .....	48
4.2.2 Luxol fast boyası .....	50
4.2.3 Cleaved caspase 3 immunohistokimyasal boyama.....	51
4.2.3.1 Cleaved caspase 3 antikor sonuçları .....	54
5. TARTIŞMA .....	55
6. SONUÇLAR. ....	59
7. KAYNAKLAR.....	63
Ekler.....	
Ek1: Etik Kurul Onayı.....	75

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

RA: Retinoik asit

AOY: Akut omurilik yaralanmaları

ASCI: Spinal cord injury

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

SEP: Somatosensoryalevoked potansiyel

MEP: Motorevoked potansiyel

MS: Medulla spinalis

MSS: Merkezi sinir sistemi

RNT: Reaktif nitrojen türleri

ROT: Reaktif oksijen türleri

SYA: Serbest yağ asitleri

SR: Serbest radikal

MDA: Malondialdehit

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik oksit sentaz

PNL: Poli nükleer lökosit

BT: Bilgisayarlı tomografi

FDA: Foodand Drug Administration

## **TABLO DİZİNİ**

Tablo 1. Genişletilmiş deneysel omurilik yaralanması modelleri listesi (Tator)

Tablo 2. Deneysel omurilik yaralanmalarında takip parametreleri

Tablo 3. İkincil hasar mekanizmaları

Tablo 4. Akut omurilik yaralanmasının patolojisi

Tablo 5. AOY'nın geç dönem patolojik etkiler

Tablo 6. Duyu muayenesindeki 28 dermatom noktası

Tablo 7. Standart omurilik muayenesinde 10 myotom noktası

Tablo 8. ASIA Skalası

Tablo 9. DrummondMoorekriterleri

Tablo 10. Eğik düzlem ve Drummond ve Moore kriterlerinin 14. gün değerleri

Tablo 11. Gruplarda 14.gün Drummond ve Moore kriterinin skor dağılımı

Tablo 12. Eğik düzlem ve Drummond ve Moore kriterlerinin 28. gün değerleri

Tablo 13. Gruplarda 28.gün Drummond ve Moore kriterinin skor dağılımı

## ŞEKİL DİZİNİ

**Şekil 1.** Edwin Smith papirüsü

**Şekil 2.** Duramater ve araknoid membran, subaraknoid aralık, piamater, arka köklerin omurilikten çıkışı ve ligamentum dentikulum gösterilmiştir.

**Şekil 3.** A) Sıçan kafeslerinin genel görünüşü. B) Gavaj ile beslenme, isotretinoin verilmesi.

**Şekil 4.** A) Cerrahi öncesi sıçanların prone pozisyonda povidon iyot ile dezenfeksiyonu. B) Ekartör yerleştirilmesi, C) Laminektomi sonrası dura görünümü.

**Şekil 5.** A) Anevrizma klibi uygulanması. B) 20A- analog ısıtıcılı manyetik karıştırıcı cihazı.

**Şekil 6.** A) Eğik düzlem testi. B) AOY oluşturulan segment. C) Grupların ve sıçan numarasının yazıldığı kaplar.

**Şekil 7.** A) Gruplarda 14. Gün eğik düzlem açısı değerleri. B) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

**Şekil 8.** A) Gruplarda 14. Gün Drummond ve Moore değerleri. B) Çoklu karşılaştırma sonuçları.

**Şekil 9.** A) Gruplarda 28. gün eğik düzlem açısı değerleri. B) Çoklu karşılaştırma sonuçları

**Şekil 10.** A) Gruplarda 28. Gün Drummond ve Moore değerleri. B) Çoklu karşılaştırmasonuçları.

**Şekil 11.** A) Sham grubu (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre)(H&Ex400). B) Travma grubu (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400).

**Şekil 12.** A) Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün (siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400). B) Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün (siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400).

**Şekil 13.** A) Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün (siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400). B) Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. gün (siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400).

**Şekil 14.** A) Sham grubu; mavi renkte motor nöron uzantıları (Luxol Fasx400). B) Travma grubu (Motor nörona ait dentritik uzantı siyah ok) (Luxol Fasx400).

**Şekil 15.** A) Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün (Luxol Fasx400). B) Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. Gün (Dentritik uzantı siyah ok) (Luxol Fasx400).

**Şekil 16.** A) Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün (Luxol Fasx400).  
B) Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. Gün (Dentritik uzantı siyah ok) (Luxol Fasx400).

**Şekil 17.** A) Sham grubu (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved caspase 3x400). B) Travma grubu (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved caspase 3x400).

**Şekil 18.** A) Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved caspase 3x400). B) Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved caspase 3x400).

**Şekil 19.** A) Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved caspase 3x400). B) Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. gün (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved Caspase 3x400).

**Şekil 20.** Cleaved caspase 3 Antikoruunun ekspresyonunun gösterilmesi

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Akut omurilik yaralanması (AOY), oluşturduğu sonuçlar bakımından, insanlığın günümüzde kontrol altına alamadığı önemli bir sorundur. Ölüm veya yaralanma ile sonuçlanmakta ve bireysel, psikiyatrik, sosyoekonomik açıdan olumsuz etkileri ortaya çıkmaktadır.

AOY sonucunda günlük işlerini yapabilen bireyler yanında, tetraplejik, ventilatör desteğine ihtiyaç duyan hastalar da olabilir. Dolayısıyla tedavi ve bakım masrafları, işgücü ve gelir kayıpları açısından hastayı, ailesini ve ülke ekonomisini etkileyen ciddi bir sağlık problemidir.

AOY yıllık insidansı 15-40/1.000.000 arasında olduğu tahmin edilmektedir (1). Türkiye’de yılda ortalama 1600-2000 ciddi akut omurilik yaralanma olgusu bildirilmektedir ( 2). Özellikle 15-25 yaş arası gençlerde sık görülür. Erkek/kadın oranı 4/1 dir ( 3). AOY nedenleri arasında sıklıkla yüksek enerjili trafik kazaları, yüksekte düşme, iş kazaları ve sporcu yaralanmaları yer almaktadır. Servikal bölge ve dorsolomber birleşim bölgesinde spinal kord daha sık etkilenmektedir (4,5). AOY iki şekilde olmaktadır. Primer yaralanma; travma anında posttravmatik mekanik yaralanmadır ve önlenemez niteliktedir. Sekonder yaralanma ise primer yaralanmanın tetiklediği endojen hücre ölümü yolaklarının aktivasyonu ve tam anlamıyla çözümlenememiş yolaklar sonucu gelişir. Yaralanmadan sonra başlayan bu sekonder hasar kaskadının durdurulması ya da yavaşlatılması klinik tedavinin ana amacıdır. Sekonder yaralanma sırasında serbest radikaller, lipid peroksidasyonu, glutamaterjik, kolinerjik ve katekolinerjik nörotransmisyon sistemleri, inflamasyon yolağı, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, apoptotik kaskadın aktivasyonu önemli rol almaktadır (6). Sekonder yaralanmanın önlenmesine yönelik klinik çalışmalar halen devam etmektedir.

Çalışmamızda hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozu modüle eden çok sayıda genin ekspresyonunun kontrolü yoluyla omurgalı dokularının normal gelişiminde önemli bir rol oynayan A vitamini türevi olan isotretinoinin, AOY sonrası oluşan hasarda nöral doku üzerinde olumlu etkisinin olup olmadığının değerlendirilmesini amaçladık.

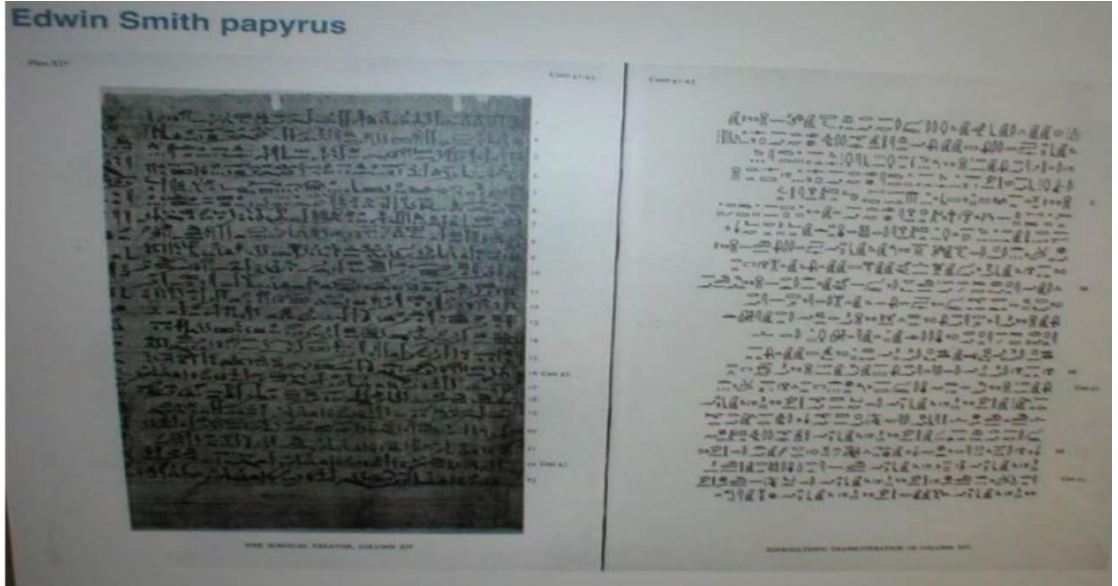
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Akut Omurilik Yaralanması ve Medulla Spinalis (MS)

AOY; kişisel, sosyal ve psikolojik etkileri, iş gücü kaybı, finansal sonuçları ile ele alındığında çok ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Yalnızca ölüm ve ciddi sakatlıklara neden olmaz, bunun dışında diğer hayati organlarda (akciğer, gastrointestinal sistem, otonom sinir sistemi, deri, üriner sistem) da işlev kaybına sebep olabilir.

#### 2.1.1 Akut Omurilik Yaralanmasının Tarihçesi ve Epidemiyolojisi

Spinal kord hasarının tanı ve tedavisi hakkındaki çalışmalar antik döneme kadar uzanmaktadır. Bilinen ilk yazılı eser, beş bin yıl öncesine dayanan ve 1930'da Breasted tarafından tercüme edilmiş olan Edwin Smith Papirüsü'dür (5). Edwin Smith papirüsü'nde bahsi geçen ilk cerrah İmhotep (MÖ 2686–2613)'tir. İmhotep, omurga ile ilgili 48 kemiksel lezyonu anlatarak, ligaman hasarını, vertebral sublüksasyon ve dislokasyonu tanımlamış; üst ve alt servikal vertebra yaralanmalarında kuadrupleji ve parapleji olacağını belirtmiştir (7,8).



Şekil 1. Edwin Smith papirüsü

#### 2.1.2 Spinal Kord Embriyolojisi ve Anatomisi

Ektoderm embriyonun dorsal hattında bulunur ve nöral tabakayı üçüncü embriyolojik haftada oluşturur. Ektodermden spinal kord, mezodermden ise diğer komşu spinal kanal elemanları oluşmaktadır. Beyin, nöral plağın ve nöral tüpün 2/3 lük rostral kısmından, omurilik ise kaudal 1/3 lük kısmından gelişir. Fetal hayatın 3. ayında omurilik ile vertebral kolon aynı uzunlukta iken vertebra hızla büyüdükünden erişkin dönemde omurilik lomber 1. vertebra alt kısmında kalır (9,10). Spinal kanal vertebra korpusu ve arkuslardan oluşur ve çok sağlam bir biçimde medulla spinalisi travmalara karşı korur (10).

Spinal kord piamater, araknoid ve duramater olarak adlandırılan zarlarla örtülüdür. Subaraknoid aralıkta beyin omurilik sıvısı bulunmaktadır. Spinal korddan radikls anterior (motor) ve radikls posterior (duysal) tarafından oluşturulan 31 çift sinir çıkar (8 servikal, 12 torakal, 5 lomber, 5 sakral, 1 koksigeal spinal sinir) (Şekil 1) (11).

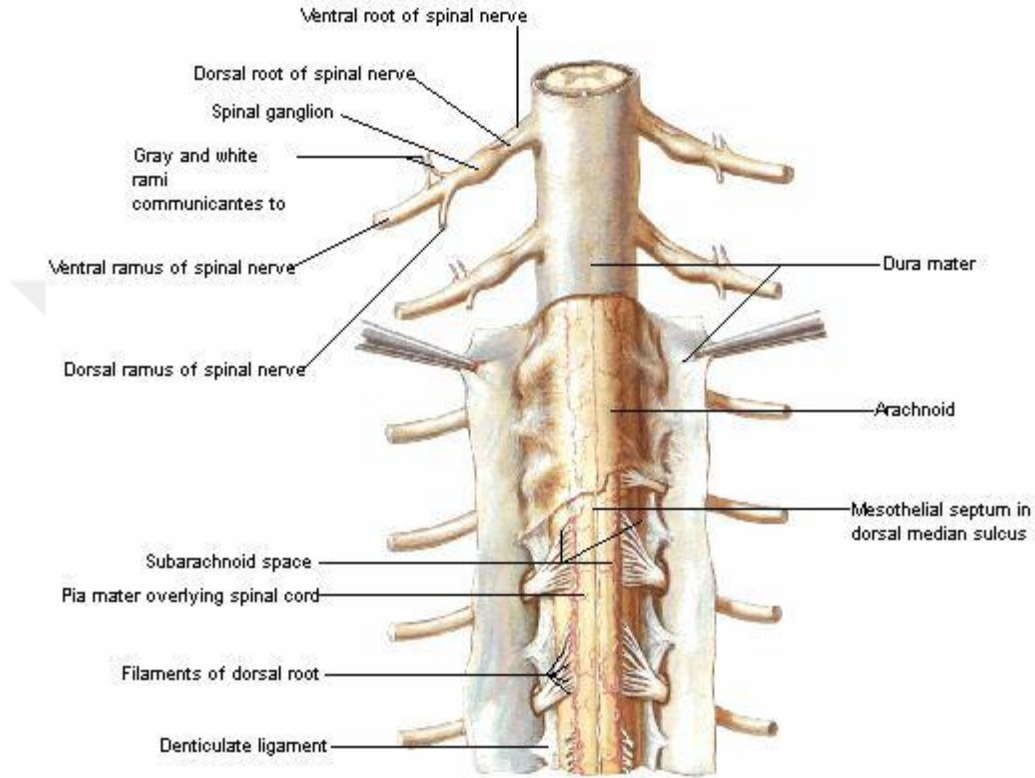
Medulla spinalis iç kısmı gri cevher (substantia grisea) ve bunu çevreleyen beyaz cevherden (substantia alba) oluşmaktadır.

Substantia Grisea: Kanalis vertebralisini çevreleyen kommissura grisea ile birbirine bağlanmış kornu anterior ve kornu posteriorlardan oluşan H harfi şeklinde bir yapıdır. Gri madde miktarı innerve ettiği kasların miktarıyla doğru orantılıdır. Servikal ve lumbosakral genişlemelerde gri madde miktarı fazladır. Sinir hücreleri, uzantıları, nöroglia ve kan damarları gri maddeyi oluşturur.

Kolumna anteriordaki hücrelerin çoğu büyük ve multipolardır. Aksonları iskelet kaslarını innerve eden alfa efferentler olarak ön kolondan çıkarlar. Daha küçük olan sinir hücreleri intrafusal kas liflerini innerve eden gama efferentler olarak dışarıya çıkarlar. Kanalis sentralis kommissura grisea merkezinde yerleşmiştir. Kanalis sentralis yukarıda 4. ventrikül ile devam eder, aşağıda konus medullaris içinde fusiform şekilde ventrikulus terminalis olarak genişler ve altta filum terminalenin kökü içinde son bulur. Kanalis sentralis beyin omurilik sıvısı ile doludur.

Substantia Alba: Üç funiculusdan oluşmaktadır. Funikulus anterior her iki tarafta orta hat ile ön sinir köklerinin çıkış yerleri arasından, funikulus lateralis ön sinir köklerinin çıkış yerleri ile arka sinir köklerinin çıkış yerleri arasında, funikulus

posterior arka sinir köklerinin girişi ile orta hat arasında yer alır. Beyaz cevher sinir lifleri, nöroglia ve kan damarlarından oluşur.



**Şekil 2.** Duramater ve araknoid membran, subaraknoid aralık, piamater, arka köklerin omurilikten çıkışı ve ligamentum dentikulum.

Spinal kord arteryel beslenmesini üç arterden sağlar. İki arteri spinalis posteriordan ve biri arteria spinalis anteriordan gelir. Arteria spinalis posteriorlar arteria vertebralislerden ya da arteria inferior posterior cerebelliden çıkarlar ve medulla spinalis arka 1/3 ünü beslerler. Arteria spinalis anterior; her bir vertebral arterden kaynaklanan iki arterin birleşmesinden oluşur. Fissura mediana anterior içinde aşağıya doğru uzanır. Medulla spinalisin ön 2/3 ünü besler. Ek besleyici arterler torasik ve abdominal aorttan kaynaklanıp intervertebral foramenden girip canalis vertebralisden giren arteria spinalis anterior ve posterior ile anastomoz yapar.

Büyük ve önemli besleyici bir arter olan arteria radikularis manga (Adamkiewicz arteri) alt torakal ve üst lumbal vertebra seviyesinde aortadan orijin alır, tek taraflıdır ve insanların çoğunda sol taraftan medulla spinalise girer. Spinal kordun alt 2/3 ünün temel arteridir.

Medulla spinalis venleri, spinal arterlere benzer bir dağılım gösterir. Anteromedian ve anterolateral venler, spinal kordun ön yüzünde 6-11 anterior radiküler vene, buradan da epidural venöz pleksusa dökülürler. Epidural venöz pleksus eksternal vertebral venöz sisteme, oradan da kaval venlere açılır. Gebelik, obezite, intraabdominal basınç artışı veya inferior vena kavada obstrüksiyon gibi durumlarda epidural sistemde valvler olmadığı için venöz göllenme olur (12,13).

### 2.1.3 Deneysel Omurilik Travma Modelleri

Deneysel AOY oluşturmada kullanılan çok sayıda travma modeli mevcuttur (Tablo 1) (14,15).

**Tablo 1.** Genişletilmiş deneysel omurilik yaralanması modelleri (15).

A. Travmatik Yaralanma
1. Akut kinetik kompresyon: Klip, balon kompresyon, vertebral dislokasyon
2. Akut statik kompresyon: Ağırlık uygulama
3. Çarpma veya ağırlık düşürme
4. Akselerasyon-deselerasyon
5. Distraksiyon
6. Transseksiyon:Parsiyel, komplet, hemiseksiyon (Laser, bistüri)
B. Non-travmatik Yaralanma
1. İskemi: Aort oklüzyonu, belirli arteriyel veya venöz oklüzyon
2. Tümör kompresyon: Ekstradural
3. Kimyasal ve fotokimyasal
4. Soğuk uygulama

Deneysel AOY mekanizmalarından en fazla ağırlık düşürme modeli, klip kompresyon modeli, ventral kompresyon tekniği, kontrollü kontüzyon, omurilik

iskemisi modeli, radyofrekans akımla segmental omurilik yaralanması ve omurilik kesi modelleri kullanılmaktadır (16). Travma modellerinin tekrarlanabilir, belirlenen şiddette oluşturulabilir ve basit olması gibi özellikleri önemlidir. Hayvan üzerindeki etkilerinin standart olarak değerlendirilmesinde bazı yöntemler vardır (Tablo 2).

**Tablo 2.** Deneysel omurilik yaralanmalarında takip parametreleri

1. Klinik muayene
a. Subjektif: Tarlov Motor Skalası
b. Objektif: Rivlin ve Tator'un eğik düzlem sistemi
c. Basso- Beattie- Bresnahan (BBB) lokomotor skalası
d. Rotarod sistemi
2. Histolojik muayene
a. Subjektif
b. Objektif: Akson sayımı, radyoaktif işaretleme, immünflorosan, elektron mikroskop
3. Görüntüleme: Bilgisayarlı Tomografi (BT), Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)
4. Anjiyografik değerlendirme
5. Spinal kord kan akımı ölçümü
6. Aksonal tarayıcılar ile değerlendirme
7. Biyokimyasal ölçümlerle değerlendirme
8. Nörofizyolojik değerlendirme: Uyarılmış potansiyeller, refleks çalışmaları

AOY oluşturulan hayvanlarda, rejenerasyonun takibi için birçok parametre geliştirilmiştir. Bu parametrelerden biri olan Tarlov Derecelendirme Sistemi nörolojik muayenenin derecelendirilmesi için kullanılan bir yöntemdir (17). Subjektif olarak değerlendirilen bu derecelendirme sisteminde paralitik sıçana 0 puan, normal motor davranışı olan sıçana 5 puan verilmektedir. Bu sistem Stokes ve Reier tarafından geliştirilmiştir. Ayrıca Basso ve arkadaşlarının tanımladığı, Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) lokomotor skalası adıyla anılan ve subjektif gözlem bulgularına

dayanan, alt ekstremite kuvvetini 0 ile 21 puan arasında sınıflandırmış motor kuvvet skalası mevcuttur (18).

Rivlin ve Tator (19) tarafından 1977 yılında geliştirilen eğik düzlem tekniği objektif bir testtir. Bu yöntemde hayvanın eğik bir düzlem üzerine yatay pozisyonda yerleştirilmesinden sonra, düzlemin zeminle olan açısı giderek arttırılır, hayvanın 5 saniye süresince devrilmeden durabildiği en yüksek açı, o hayvanın eğik düzlem derecesi olarak belirlenir (19,20).

Rotarod performans testi, objektif testlerden olup; hayvanların motor koordinasyon ve performanslarının değerlendirildiği davranışsal testtir. Hayvanların belirlenen yükseklikte belirli bir hızla elektrik enerjisiyle dönen rod üzerinde yürüyebilmesi veya düşmemesi esasına dayanır (21).

AOY'nın histolojik kesitlerinde yer alan nekroz ve hemoraji miktarı kantitatif hale getirilebilir. Akson sayısının anlamlı olduğu görülmüştür. Otomatik akson sayımı yapabilen bir yöntem Tator ve arkadaşları tarafından bulunmuştur. Akut dönemde sitotoksik ödem tespitinde difüzyon ağırlıklı görüntüleme (DAG) yararlıdır (22).

AOY'dan sonra kan akımında azalma olur, yaralanmadan 1-2 saat sonra posttravmatik iskemide ilerleme başlar (23). Omurilik kan akımını ölçmek için; C14-antipirin otoanjiografi yöntemi, Radyoaktif Mikrosferler ve Hidrojen Elektrot yöntemleri kullanılmaktadır. Sıçanlarda klip kompresyon sonrasında oluşturulan AOY'da derin ve kalıcı iskemi olduğu görülmüştür. Yüksekten ağırlık düşürme sonrasında ise omurilik kan akımında değişme olmadığı bildirilmiştir (14).

AOY'nın biyokimyasal ölçümlerinde; hücre içine girerek sitotoksik olaylar zincirini başlatan kalsiyum iyonunun ölçümü yapılabilir. Omurilikte in vivo laktat, piruvat, aspartat, glutamat düzeylerini ölçen, mikrodializ yöntemleri bulunmuştur. Lipid peroksidasyonu ile oluşan ürünler kantitatif olarak ölçülebilmektedir. Antioksidan enzimlerin (katalaz, süperoksit dismutaz) seviyelerine bakılabilmektedir (16).

Elektrofizyolojik çalışmalarda, Somatosensoryal Evoked Potansiyel (SEP) yöntemi, AOY sonrasında aksonlar üzerindeki etkilenmeyi, iyileşmeyi değerlendirmede kullanılan bir metottur (24). Motor Evoked Potansiyel (MEP) yöntemi, piramidal yolları da gösterdiği için motor fonksiyonların iyileşmesinin

değerlendirilmesinde SEP'e göre daha önemlidir. Her iki yöntemin kayıtları sırasında ısı monitörlenmesi yapılması gerekmektedir. Isı değişikliklerine bağlı latansın değiştiği saptanmıştır (25).

#### **2.1.4 Akut Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi**

Travmadan sonra ilk anda oluşan yaralanma birincil (primer) hasar, birincil olaydan dakikalar saatler sonra oluşmaya başlayan hasara ikincil (sekonder) hasar denir (26,27).

##### **2.1.4.1 Birincil hasar**

Birincil hasar nöron, akson, nöroglial yapılar ve kan damarları üzerine olan mekanik hasarın oluşturduğu, kırılan kemik fragmanının ya da cismin yaptığı ilk anlardaki yaralanmadır (14,28). Fraktür, dislokasyon, akut disk rüptürü, penetran yaralanmalar, nöranal hasar yanında kan akımının kesintiye uğramasına ve hipoksi iskemi ve lokal enfarkt oluşmasına neden olur (14,29).

En sık görülen birincil hasar mekanizması medulla spinalisin kalıcı kompresyonu sonucunda oluşan travmadır. Patlama fraktürleri ve fraktür-dislokasyon etkindir. İkinci mekanizma darbe ve geçici basıya neden olan dejeneratif servikal diskin hiperekstansiyon ile spinal kordu hasarlamasıdır. Üçüncü mekanizma aksiyal planda fleksiyon, ekstansiyon, rotasyon ya da dislokasyondan kaynaklanan distraksiyonel kuvvetlerin spinal kolonun aşırı gerilmesine bağlı spinal kord ve/veya kan damarlarının gerilip kopmasına neden olan hasarlanmadır. Laserasyon, transeksiyonda ise ateşli silah yaralanması, kesici-delici aletle yaralanma veya ciddi distraksiyon sonucu oluşur. Omurilikte kan akımı, AOY sonrasında oluşan ezilme, kontüzyon nedeniyle azalmaktadır. Vasküler yapıların baskı altında kalması, yırtılması, peteşial kanamalar ve kontüzyonu ile nöronlarda diffüz hasar oluşabilir. (30,31).

##### **2.1.4.2 İkincil hasar**

Birincil travmanın tetiklediği patofizyolojik olaylar uzamış ikincil hasar fazı ile devam eder. İkincil hasar birincil olaydan dakikalar, saatler sonra meydana gelen mekanizması tam olarak bilinmeyen, patofizyolojik olaylar zinciridir. Birincil hasar ile gelişen ödem, iskemi, membran hasarı, hücre içi kalsiyum artışı, eksitatör

aminoasit ve serbest radikallerin ortaya çıkması sonucu vasküler, biyokimyasal, enerji metabolizmasındaki değişikliklere bağlı patolojik hasar mekanizmaları devreye girer. Birincil hasar sonrası gelişen bu olaylar doğrudan ve dolaylı etkileri ikincil hasarı oluşturur. AOY tedavisinde amaç ikincil hasarın gelişimini önlemektir (20,32). İkincil hasar sistemik ve lokal faktörlerin etkisi ile oluşmaktadır. Sistemik etkiler içinde nörojenik şok ve solunum yetmezliği önemli rol alır (20). AOY'ından sonra spinal kord fizyolojisinin otheregölasyonunun bozulması ve sistemik hipotansiyonun oluşması, postravmatik iskemiye arttırır (20). Vasküler hasara bağılı lokal etkiler oluşur (29). İkincil hasar gelişmesine spinal kord kan akımının bozulması, hücredeki ödemin hücre zarını parçalaması sonucu açığa çıkan nörotoksik maddeler ve hasar kaskadının aktifleşmesi, hücre membranındaki hasar nedeniyle hücre içi ve dışı ortamın bozulması sebep olur (14,33). Erken dönemde bozulan omuriliğin kanlanması ve enerji yetersizliği sonucu nekroz gerçekleşir. Oluşan hasar, yaralanma yeri ile sınırlı olmayıp inen yolların nöronlarında da apoptitoz ve nekroz gelişimine neden olur. Sekonder hasar gri cevherde başlayıp beyaz cevherde devam eder (Tablo 3) (34).

**Tablo 3.** İkincil hasar mekanizmaları

Sistemik etkiler (Nörojenik şok)
• Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi
• Kan basıncında kısa süreli artış, sonra uzun süreli hipotansiyon
• Periferik dirençte azalma, Kardiyak debide azalma
Omurilik dolaşımında lokal vasküler hasar
• Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma
• Özellikle gri cevherde hemoraji
• Mikrodolaşımda kayıp-mekanik, tromboz, vazospazm
Biyokimyasal değişiklikler
• Eksitotoksitite-glutamat
• Nörotransmitter birikimi
• Ketakolaminler-noradrenalin, dopamin
• Araşidonik asit salınması
• Serbest radikal üretimi, Lipid peroksidasyonu
• Eikosonoid üretimi, Prostaglandinler
• Endojen opioidler, Sitokinler
Elektrolit kaymaları
• İntasellüler kalsiyumda artış
• Ekstrasellüler potasyumda artış
• İntasellüler sodyumda artış
Yangısal yanıt
• Serbest Radikal üretimi
• Makrofajlar
• Aksonal yıkım, Miyelin artıklarının salınımı

• Sitokinlerin salınması
• Glial hücre aktivasyonu
• Oligodendritsitlerde sitotoksik etkiler
• Wallerian dejenerasyon
Ödem
Apopitozis
Enerji metabolizmasında kayıp
• ATP Üretiminde azalma

#### 2.1.4.2.1 Sistemik etkiler

Sistemik etkiler; nörojenik şok ve solunumsal yetmezlik olarak gösterilmektedir (30). Nörojenik şok, vasomotor inputun ciddi paralizi nedeniyle yetersiz doku beslenmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu şok tablosunda kardiyak outputun depresyonu ve periferal dirençte azalma ile hipotansiyon ve bradikardi oluşmaktadır. Bu durum sempatik tonusun azalması ve vagal tonusun artmasına bağlı miyokardiyal fonksiyon bozulması ile ilişkilidir (35). Spinal kord ve birçok organın iskemisine neden olan nörojenik şok tablosu, tedavisiz bırakılırsa nöral doku hasarını artırır (30). Nörojenik şok şiddeti AOY'nın seviyesi ile ilişkilidir. Servikal düzeydeki hasar çok ciddi bir nörojenik şok tablosu oluşturabilmektedir (36). Sistemik hipotansiyon posttravmatik iskemiye şiddetlendirir, acil tedavi gerektirir (20).

#### 2.1.4.2.2 Lokal kan dolaşımı ile ilgili etkiler

Mekanik travmaya bağlı venüller ve kapillerdeki hasar öncelikle travma bölgesinde oluşmakta rostral-kaudal olarak uzanım göstermektedir. Nadiren direk travmaya bağlı anterior spinal arter gibi büyük damarlarda hasar meydana gelebilmektedir (20,37,38). Mekanik darbeye bağlı oluşan yaralanmanın ilk anlarında MS içerisinde özellikle gri cevherde peteşial kanamalar oluşur. Darbeden sonra vasküler yapıdan çıkan proteinoz sızıntı spinal kordda ödeme neden olarak korddaki basıncın artmasına ve kan akımının bozulmasına sebep olur (39). Direk travma ve tetikleyici ajanlar ile oluşan vasospazm, iskemi oluşmasında önemli rol

oynamaktadır (30). Ayrıca tromboksan A2 gibi maddelerle meydana gelen intravasküler tromboz, posttravmatik iskeminin artmasına neden olur (30). Hasarlanan damardan serbestleşen endotelin kord beslenmesinin bozulmasına neden olur (40). İskemide, süperoksid, hidroksil radikalleri, nitrik oksit (NO) ve diğer serbest oksijen radikalleri oluşmakta ve erken reperfüzyon periyodunda yükselerek ikincil hasarda çok önemli rol oynamaktadır (30). ATP üretimini deprese eden posttravmatik iske mi, hücrenin iç dengesinde önemli rol oynayan Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pompası gibi enerji bağımlı mekanizmaların işlevinin bozulmasına yol açar (40).

#### **2.1.4.2.3 Glutamat eksitotoksitesisi**

Glutamat majör eksitatör nörotransmitterlerdendir. AOY'nın ilk dakikalarında ekstrasellüler glutamat düzeyleri hasarlanma bölgesi ve çevresinde artmakta ve direkt- indirekt kord hasarına neden olmaktadır (30,41). Eksitotoksik hücre ölümü; kalsiyum birikimine bağlı nekroz veya apoptoza bağlı nöron ölümü ile oluşmaktadır (42). Nöronlar ve oligodendrositler çok fazla glutamat reseptörü eksprese ettikleri için glutamat eksitotoksitesine daha duyarlıdır. Beyin ile hasarlanan spinal segmentin distali arasındaki iletimin azalması veya kaybolması nedeniyle motor ve duysal defisit oluşmaktadır.

#### **2.1.4.2.4 Elektrolitler ile ilişkili sekonder yaralanma**

İntrasellüler kalsiyum (Ca) konsantrasyonunun yükselmesiyle, birçok mekanizma devreye girer ve bu durum ikincil hasarın artmasına neden olur. Travmadan sonra Ca'un hücre içine girişi; hasarlanmış hücre membranından, voltaj duyarlı Ca kanallarından ve glutamat ile aktive olan Ca kanallarından olur (15). Ca'nın fazla miktarda hücre içine girişi toksik hücre ölümünün son ortak yolu olarak ortaya çıkmaktadır (30,40). Ca'nın hücre içinde artmasıyla; serbest yağ asitlerinin salınımı, fosfolipaz A2 aktivasyonu, enerji rezervlerinin tükenmesi, serbest radikal oluşumu, reseptör proteinlerin kovalent modifikasyonu, hücre iskeletinin mikrotübüler ve nöroflament komponentlerinin modifikasyonu, mitokondrial oksidatif fosforilasyonun bozulması, aksonal dejenerasyon, litik enzim aktivasyonu ortaya çıkmaktadır (40,43,44). Çalışmalarda; Ca kanal blokörlerinin spinal kan akımını arttırarak ikincil hasarı önlemede etkili olduğu gösterilmiştir (45).

İntrasellüler Ca birikiminden korunmada sodyum (Na) kanal blokörlerinin önemli oldukları görülmüştür (45). İntrasellüler Na ve suyun artışı sitotoksik ödeme ve intrasellüler asidoza neden olarak hasarı artırır. Artan ekstrasellüler potasyum (K), nöronların aşırı depolarizasyonu ve spinal şok oluşumunda önemli bir faktördür (23). Hücre içi magnezyum (Mg) düşüşü, Mg'ü kofaktör olarak kullanan reaksiyonlarda enzimatik bozulmaya, glikoliz, oksidatif fosforilasyon ve protein sentezi gibi metabolik olayların etkilenmesine sebep olmaktadır. Mg iyonu özellikle nörotoksitede koruyucu olduğundan, seviyesindeki düşüş nöronal hasarın artmasına neden olmaktadır (30). Hücre içi Ca aktivasyonu, Mg'un düşmesi ile daha da artar ve ikincil hasarın büyümesine yol açar (46).

#### **2.1.4.2.5 Apoptoz**

Fizyolojik hücre ölümü olan apoptoz ilk kez 1972'de nekrozdan farklı mekanizması olan diğer bir ölüm şekli olarak tanımlanmıştır. Genlerle düzenlenen, programlı, RNA, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan, organizmada homeostazi koruyan apoptoz, hücrelerin kendi kendilerini yok etmesidir. Alzheimer, Parkinson, Huntington koresi gibi nörodejeneratif hastalıklarda apoptozis tetiklendiği için nöronal kayıp oluşmaktadır (47). İskemi-reperfüzyon hasarında, dokularda perfüzyon bozukluğu ile hücreler apoptozise gider. Hasarlanma arttıkça apoptozis hızı artar ve hücre irreversible bir yola girer (48). Memelilerde başlıca iki apoptozis yolu mevcuttur.

##### **a) Ekstrinsik yol**

Hücre yüzeyinde yer alan apoptoz reseptörlerine apoptoz sinyallerinin bağlanması ile reseptörler trimerik yapıya dönüşür. Trimerik yapıya dönüşen reseptör; adaptör molekülleri ve prokaspazla birleşerek 'Death inducing signaling complex' (DISC) adı verilen yapıyı meydana getirir. Bu birleşme ile inaktif prokaspaz-8'den aktif kaspaz-8 oluşmaktadır. Aktif kaspaz-8 direkt ve indirekt olmak üzere 2 yolla kaspaz-3'ü aktifler ve apoptozu başlatır. Aktifleşen kaspaz-3 DNA parçalanmasına sebep olur. Diğer apoptoz reseptörleri de aynı yollarla apoptozu uyarabilir (49,50).

##### **b) İnstrinsik yol**

Büki ve ark. tarafından aksonlarda mitokondri iç zarından sitokrom c salınımı tanımlanmıştır (51). Mitokondri iç zarından sitozole salınan sitokrom c, apoptozisin

mitokondriyal yolunu başlatır. Sitozoldeki sitokrom c; apopitozis aktive edici faktör-1, kaspaz-9 ve deoksiadenozintrifosfata bağlanır ve sırasıyla; kaspaz-3 aktivasyonuna, endonükleazların aktivasyonuna ve DNA'nın yıkılmasına neden olur (52). Radyasyon, kemoterapi gibi nedenlerle hücrede DNA hasarı olduğunda hasar tamir edilemeyecek düzeyde ise, aktive olan genler, hücrenin apopitozisine neden olabilir. Bunların en önemlisi p53 genidir. Hücredeki hasar onarılamazsa p53 geni bax proteinini (pro-apopitotik) aktive ederek mitokondri aracılığı ile hücrenin apopitozise gitmesini sağlar. Sonuç olarak hasarlı DNA hücresi ortadan kaldırılmış olur (48,53). Hücre içi bcl-2/bax oranı hücrenin apopitozise gidip gitmeyeceği açısından çok önemlidir. Bax fazla ise hücre apopitozise yönelir, bcl-2 (antiapopitotik gen) fazla ise apopitozis önlenir (39). P53 apopitozis mekanizmasının, kafa travmasına bağlı nöral hücre ölümünün nedeni olduğu belirtilmektedir (54).

AOY'dan sonra nöron, oligodendrosit, mikroglia ve astrositlerdeki apopitotik yollar aktiveleşebilir. Hücre membranı, iç iskeleti ve proteinlerin yıkımında başlıca rolü olan kaspaslar, Ca birikimi ile aktiveleşir ve sonuçta hücre ölümü gerçekleşir. Sitokinler, inflammatuar hasar, serbest radikal hasarı ve eksitotoksisite bu durumun oluşmasında etkilidir (30).

#### **2.1.4.2.6 İmmün sistem ilişkili spinal kord hasarı**

Hasarlanmış kordda inflamasyonu, immün hücreler ve düzenleyici proteinler birlikte oluşturur. İkincil hasarlanmada inflamasyon anahtar role sahiptir. AOY gerçekleşikten hemen sonra başlar ve aylarca sürebilir. İmmün hücreler interleükin (IL)-1 $\beta$ , IL-6 ve Tümör Nekroz Faktörü (TNF)- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerini salgılayarak inflamasyonun yayılmasına neden olur. İnflamatuvar yanıt sağlıklı nöronların rejenerasyonunu engelleyen hücresel enkazın ortadan kaldırılmasında önemlidir. Ayrıca aşırı inflamatuvar yanıt normal dokuya hasar verebilir. Eksojen olarak kontrol altına alınmayan immün yanıt, aksonal büyümeyi durdurur, hücrenin ölümüne neden olur (55).

AOY sonucunda nötrofiller, monositler, mikroglia ve T-lenfositler inflamasyon yanıt ile hasarlanan bölgeye gelmektedir. Nötrofiller, hasarlanan

bölgeye gelen ilk immün hücrelerdir. Nötrofiller, mikrobiyal etkenleri ve doku kalıntıları uzaklaştırır, inflamatuvar hücreleri ve glial hücreleri aktive eder, nöron hasarı ve ölümüyle sonuçlanan kaskadın sitokin, proteaz ve serbest radikallerini nötrofiller salgılar. AOY'nın şiddeti, endotel hücre yüzeyindeki nötrofil adhezyonunun inhibisyonu ile azaltılabildiği gösterilmiştir (56). AOY'dan hemen sonra monositler spinal korda infiltre olur ve makrofajlara dönüşürler. Aktifleşen yerleşik mikroglia ve makrofajlar sitokinler, serbest radikaller ve büyüme faktörlerini açığa çıkarırlar (57,58). Nöronların sağ kalımı ve onarımı için büyüme faktörleri gereklidir. Diğer yandan serbest radikaller ve pro-inflamatuvar sitokinler hasarın artmasına ve lezyonun genişlemesine neden olur. AOY'da lenfositlerin etkinliği oldukça tartışmalıdır. Otokaktif T lenfositlerin demyelinizasyonu uyararak akson hasarını ve fonksiyonel kaybı arttırdığına dair çalışmalar bulunmaktadır (59). Bazı çalışmalarda ise lenfositlerin myelinli nöronları koruduğu gösterilmiştir (60,61).

#### **2.1.4.2.7 İkincil hasarda mitokondrinin etkisi**

Mitokondri serebral metabolizmada, hücrel Ca hemostazının sağlanmasında, oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarında hücrel düzeyde önemli görevleri bulunmaktadır (62). Travma nedeniyle hücrel respirasyonun ve oksidatif fosforilasyonun bozulması ile mitokondrial fonksiyonlar azalır. Bununla birlikte oluşan hasar, mitokondrial Ca transportunu inhibe ederek intrasellüler Ca hemostazını bozmaktadır (30). Ca tarafından uyarılmasıyla mitokondri iç membranının permeabilite değişiklikleri oluşur. Mitokondrial membran potansiyeli azalır, osmotik şişme ve mitokondrial lizis gerçekleşir (56). Mitokondri hasarını mekanik stres, inflamatuvar reaksiyonlar arttırmaktadır. Bununla birlikte mitokondri dış membran permeabilitesinin artması ile apoptogenik proteinler sitozole salınmakta, apoptoz ve hücre ölümü artmaktadır. Dolayısıyla AOY'da temel hasarın ana düzenleyicilerinden biri mitokondridir.

#### **2.1.4.2.8 Lipid peroksidasyonu ve serbest radikallere bağlı hücrel hasar**

##### **a) Lipid peroksidasyonu**

AOY'de hipoksi ve iskemi ile oluşan serbest radikallerin, çoklu doymamış yağ asitlerinin metilen grubundan bir H atomu koparmasıyla lipid peroksidasyonu

başlamaktadır (56,57). Biyoaktif aldehitler, lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşur. Yıkım ürünlerinin en önemlileri malondialdehit ve hidroksialkenallerdir. AOY ile oluşan iskemi, hipoksiye bağlı ortaya çıkan serbest radikaller nöron, nöroglia, vasküler endotel hücre membranları ve miyelinde lipit peroksidasyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonu membran proteinlerinde hasar oluşturur (56,57).

### **b) Serbest radikallere bağlı hücresel hasar**

Lipid peroksidasyonu, proteinler arasında disülfid bağı oluşumu ve DNA hasarı serbest radikallerin başlıca hasar mekanizmalarıdır (63). Serbest radikaller hücre membran stabilizasyonunu bozar ve hızlı hücre ve doku hasarına sebep olurlar. Disülfid bağı oluşumuyla glutatyon gibi tiyollerin oksidasyonu tiyol ve oksijen radikallerinin oluşumuna yol açar. Sonuç olarak proteinlerin dizilimlerini değiştirerek vücuttaki metabolik aktiviteleri durdururlar. DNA'nın yapısını değiştiren serbest radikaller mutasyonlara, proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarını değiştiren serbest radikaller proteinlerin işlev bozukluğuna sebep olurlar (63).

#### **2.1.4.2.9 Akson demiyelinizasyonu**

AOY'a bağlı akson demiyelinizasyonu, glutamat eksitotoksitesinin tetiklediği oligodendrosit kaybının sonucudur. Apoptoz, serbest radikal hasarı, proinflammatuar sitokinler bu durumu daha da artırır. AOY sonucunda lezyon bölgesinde saatler içinde, lezyonun rostral ve kaudal bölgesinde haftalarca devam eden oligodendrosit kaybı demiyelinizasyona neden olur (64,65). Miyelin kaybına bağlı ileti yavaşlar veya bloke olur.

#### **2.1.4.2.10 Nitrik oksitinin etkisi**

L-Arjinin'den nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından sentezlenen nitrik oksit (NO), yarı ömrü kısa potent serbest radikal yapıda bir moleküldür (65,66). NO, damar tonusunun düzenlenmesi, platelet fonksiyonların düzenlenmesi, inflamasyon, immunolojik yanıt, otonomik tonus ve duysal iletinin düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik olayda yer alan önemli bir nörotransmitterdir (67). Aşırı üretimi ikincil hasarı arttırarak nörotoksik etkinin oluşmasına neden olabilir (66,68,69). AOY gibi durumlarda inflamatuvar mediatörler ve sitokinler tarafından uyarılması sonucunda

makrofajlar ve glial hücreler, endotelial hücreler, fibroblastlar, nöronlar ve vasküler düz kas hücreleri tarafından üretilir (66,68). Protein hasarı, lipid peroksidasyonunun artışı, DNA hasarı, mitokondrial respirasyonun durması, DNA replikasyonunun durdurulması ile hücre ölümü ortaya çıkar (67).

#### **2.1.4.2.11 Yaralanma yerindeki TNF- $\alpha$ etkisi**

TNF- $\alpha$ 'nın AOY gelişikten sonraki rolü hakkında henüz netlik yoktur. TNF- $\alpha$ 'nın sekonder doku hasarını artırdığı belirtilmektedir (70). Sıçanlarda travmanın 30. dakikasında hasarlanan bölgede TNF- $\alpha$  düzeyleri arttığı ve bu artışın travmanın şiddeti ile doğru orantılı olarak değiştiği bildirilmektedir (71). Lökositopeni durumunda lezyon bölgesinde TNF- $\alpha$  düzeylerinin artmadığı ve AOY bağlı gelişen motor defisit azaldığı görülmüştür (72). Ayrıca çalışmalar AOY varlığında TNF- $\alpha$ 'nın akut fazda zararlı, kronik fazda ise yararlı bir sitokin olduğu bildirilmektedir (73). Nöronal ve glial hücrelerde TNF- $\alpha$  reseptörlerinin yerleşim paternindeki farklılıklar, TNF- $\alpha$ 'nın yararlı veya zararlı etki göstermesinden sorumlu tutulmaktadır (74). Ayrıca TNF- $\alpha$ ' nötrofillerin endotel yüzeyine tutunmasını sağlayan E-selektin gibi molekülleri arttırarak dokuda hasara neden olmaktadır (75).

#### **2.1.5 Akut Omurilik Yaralanmasının Patolojisi**

AOY'dan sonra işleyen patolojik süreç akut, subakut ve geç faz olarak üç döneme ayrılır (Tablo 4). MS hasarında nöropatolojik bulgular lezyona neden olan etkenin şiddetine, süresine ve hasarlanmadan sonra geçen zamana bağlı olarak değişmektedir (76).

**Tablo 4.** Akut omurilik yaralanmasının patolojisi

Santral kanama: Kapiller, venüller ve arteriollerden gri cevher içine
Hematomyeli
Yaralanma yerine uzak kanamalar

Santral nekroz
Posttravmatik enfarkt
Subaraknoid kanama
Subdural veya ektradural hematomlar
Ödem: Lokal, genişleyebilen
Aksonal yaralanma: Transeksiyon, aksolemma yırtılması, şişme, dev aksonlar, organel kümelenmesi
Myelin yaralanması: Yırtılması, veziküler ayrılma, periaksonal boşluklar
İnflamatuvar hücreler: Makrofajlar, mikrogliya

### 2.1.5.1 Erken dönem patolojisi

AOY'nın şiddetine bağlı olarak değişmekle birlikte, en erken makroskopik bulgu kordda yumuşama, yuvarlaklaşma, pembe-kırmızı renk değişikliği oluşmasıdır (78). Erken döneme ait morfolojik değişiklikler 4. saatte oluşmakta, 8-24 saat arasında ise nekroz ışık mikroskobu ile görülebilmektedir. Gri cevherde peteşial kanamalar, beyaz cevherde ödem ilk görülen belirtilerdir. Ödem travmadan 12-18. Saat sonra maksimuma ulaşır, 3-5 gün içinde şiddeti azalır ve 15 güne kadar beyaz cevherde belirgin olarak görülebilir (76). Polimorfonükleer lökositler (PNL) lezyon bölgesinde hakimdir. Eritrositlerin ekstravaze olmasıyla peteşial hemorajiler oluşur (79). MS yaralanmalarında aksonların ve miyelin kılıfın şişmesi ve kaybı görülebilir (80). Ultrastrüktürel olarak aksonlarda mikrotübül ve nöroflamanlarda kesilme ve parçalanma görülür. İyon kanallarında fonksiyonel bozukluk ve vasküler endotelial hasar akson membranlarındaki hasara bağlı ortaya çıkar. Akson hafif hasarlandığında şişmiş, boğumlanmış ve kıvrımlanmış dejenerasyon olurken, şiddetli hasarda aksonda kesintili damlacıklar izlenir. Akson tamamen yırtılırsa veya koparsa o bölgede "terminal tanecik" adı da verilen terminal şişme görülmektedir. Miyelin kılıfın hafif hasarında vakuoler dejenerasyon, ağır hasarında miyelin ve aksonun beraber parçalanmaları ile serbest yağ tanecikleri oluşur (76,80,81).

Nöron hücresinin ölmesi halinde 1-4 saat içinde hücre ve sitoplazması üçgen şeklinde büzüşmektedir. Kromatin yapısının nüvede kabalaşması, parçalanması,

intrasitoplazmik nissl cisimciklerinin kaybı ve koyu eozinofilik boyanma ile "kırmızı nöron" olarak adlandırılan değişiklik ortaya çıkar. Ölü nöron yapıları, makrofajlar ve mikroglialar tarafından fagosite edilir (76,82).

### 2.1.5.2 Subakut dönem patolojisi

Nöronal dejenerasyon ve kimyasal uyarılar ile mikroglia sitotoksik makrofaja dönüşür. Nedbe dokusu ise myofibroblastların kollajen üreten fibrositlere dönüşümü ile oluşmaktadır. AOY'nı takiben 2-3 hafta sonra akut dönemdeki değişiklikler azalmakta, mikrohemorajiler rezorbe olmakta, ödem azalmaktadır. Makrohemorajiler ise organize olarak rezorbe edilmeye çalışılır. Vasküler yapıların lümeninde fibrin trombüsleri vardır. Lipid ve hemosiderin yüklü makrofajlar ortamda bulunurlar. Fagositik hücreler hasarın olduğu yerde, rozet formasyonu şeklinde bulunurlar. (76,83). Santral hemorajik nekroz meydana gelmişse, boru şeklinde oluşan kistik boşluk olarak onarım gerçekleşir. Eğer aksonal bağlantı kesilmişse, nöronda "santral kromatolizis" olarak isimlendirilen sitoplazmanın homojenizasyona uğradığı ve şiştiği, çekirdeğin kenara itildiği değişiklikler görülür. Akson kesisinin olması durumunda aksonun distalinde wallerian dejenerasyon oluşmaktadır. AOY'nın ilk anlarında şişmiş olan spinal kord, onarımın sonuna doğru incalir ve atrofiye olur. Çalışmalarda rejenerasyonun yaklaşık 3 yıla kadar sürdüğü gösterilmiştir (76,83).

### 2.1.5.3 Geç dönem patolojisi

AOY'dan sonra 6 ay veya daha geç dönemde ortaya çıkan bulgulardır (Tablo 5) (84). Lezyon bölgesindeki MS'de duramater ve araknoid membranda kalınlaşma olmaktadır. Meningial zar, korda veya duraya yapışıklık gösterir. Fibrozis ve meningeal hücre proliferasyonu görülür. MS makroskopik olarak büzülmüş, küçülmüş, gri renkli ve sert kıvamlıdır. Skar dokusuyla birlikte bazı nöronlarda aksonal rejenerasyon, schwann hücrelerinde tekrar miyelin kılıf oluşumu meydana gelebilir (76).

**Tablo 5.** AOY'nın geç dönem patolojik etkileri

Santral boşluk oluşumu
Travma sonrası infarkt

Posttravmatik syringomyeli
Kistik myelomalezi
Lezyondan uzak nekrotik yapılar
Miyelin kılıf kaybolması
İnflamasyon
Wallerian dejenerasyon
Skar ve gliozis
Araknoid enfeksiyonu
Atrofi
Rejeneratif evreler: Aksonlar, schwan hücreleri, epandim

### 2.1.6 AOY'da Tanı

Multitrammalı hastalarda aksi ortaya konulana kadar spinal kord hasarı olabileceği unutulmamalıdır. Şiddetli travmada birincil hedef yaşam desteğinin sağlanmasıdır. Daha sonra ikincil yaralanma olasılığını azaltmak için, yeterli servikal immobilizasyon ve sırt tahtaları ile transport yapılmalıdır (85,86). Hekimlerin yüksek enerjili travmadan oluşan yaralanmalarda seri muayenelerle duysal ve motor fonksiyonu değerlendirmeleri, nörolojik defisitleri kaçırma olasılığını azaltacaktır (85-87).

Spinal kolon ön-arka ve yan grafilerle değerlendirilmelidir. Direk grafide C2'nin odontoid proçesi ağız açık grafide daha iyi görünür (88). Omurilik yaralanmasında en yararlı araştırma yöntemleri BT ve MRG'dır (85,86). BT; yan grafilerde görülemeyen arka elemanları ve orta kolon fraktürlerini göstermede başarılıdır (85,86). MRG; travma sonrası oluşan akut disk hernilerini ve yumuşak dokuları, spinal kordu göstermede başarılıdır. AOY'da ilk 24 saatte T2 imajlarda azalmış sinyal intensitesi hematoma olarak değerlendirilir. Ödem ve kordda oluşan kontüzyon yüksek sinyal intensitesinde görülür. Ayrıca paraspinal kanamalar T2 görüntülerinde yüksek sinyal intensitesindedir. Ligaman instabilitesinde teşhis önemlidir (85,86).

Dermotom ve miyotomun sistematik muayenesi ile AOY ile oluşan hasar belirlenebilir (20).

Tetrapleji (kuadropleji): Servikal bölgede oluşan spinal kord hasarına bağlı motor ve/veya duysal işlevin tam bozulmasını kapsar (20).

Parapleji: Torasik, lomber ya da sakral segmentlerde oluşan spinal kordun hasarı ve sekonder motor ve/veya duysal işlev kayıplarını tanımlar (20).

Nörolojik seviye; vücutta bilateral normal duysal ve motor fonksiyonun korunduğu en kaudaldaki spinal kord segmentidir. Duysal seviye; vücudun bilateral olarak normal duysal işlevini gösteren en kaudal spinal kord segmentini tanımlar. Motor seviye; en kaudal normal motor işlev gösteren segmenti tanımlamaktadır. İskelet seviyesi; radyografik incelemede en büyük vertebral hasarın olduğu seviye olarak belirtilir (20).

Bu seviyeler;

1. Vücudun sağ ve solunda 28 duysal noktası olan dermatomun muayenesi ile belirlenir (Tablo 6).
2. Vücudun sağ ve solunda 10 miyotom noktası muayenesi ile belirlenir (Tablo 7).

**Tablo 6.** Duyu muayenesindeki 28 dermatom noktası

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

**Tablo 7.** Standart omurilik muayenesinde 10 miyotom noktası

Kök seviyesi	Kas grubu	Kök	Kas grubu
--------------	-----------	-----	-----------

		seviyesi	
C5	Dirsekte fleksör	L2	Kalçada fleksör
C6	Bilekte ekstansör	L3	Dizde ekstansör
C7	Dirsekte ekstansör	L4	Ayakta dorsifleksiyon
C8	Uzun parmakta fleksör	L5	Başparmakta ekstansiyon
T1	Kısa parmakta abduktör	S1	Plantar fleksiyon

İnkomplet yaralanma: Nörolojik seviyenin altında duysal ve/veya motor işlevler parsiyel korunuyorsa ve en altta sakral segmenti içeriyorsa yaralanma bu şekilde tanımlanır. Sakral duyu derin anal duyu ve anal mukokutanöz bileşkedeki duyuyu içermektedir.

Komplet yaralanma: En alt sakral segmentteki motor ve duysal işlev yokluğu olarak tanımlanmaktadır (20).

AOY'nin nörolojik ve fonksiyonel olarak uluslararası standartlarda ilk sınıflaması 1982 yılında American Spinal Injury Association (ASIA) tarafından ASIA Skalası olarak tanımlanmıştır (Tablo 8).

**Tablo 8.** ASIA Skalası

ASIA A: (Tam lezyon) Tam motor hareket ve duyu kaybı (S4 ve S5 segmentleri dahi 1)
ASIA B: (Kısmi lezyon) Tam motor kayıp. Fakat nörolojik düzey altında sensoryel fonksiyon korunmuş.
ASIA C: (Kısmi lezyon) Motor ve duyu kaybı var. Ancak lezyon seviyesi altında önemli kas gruplarında grade 3 ten az kas kuvveti korunmuş
ASIA D: (Kısmi lezyon) Motor ve duyu kaybı var. Ancak lezyon seviyesi altında önemli kas gruplarında grade 3 veya daha yüksek düzeylerde kas kuvveti korunmuş
ASIA E: (Normal) Motor hareket ve duyu normal

Nörolojik defisit varsa, omurilik yaralanması tanısı koymak daha kolaydır. Nörolojik defisit olmadan da anstabil omurilik yaralanması olabileceği unutulmamalıdır (87). Travmanın etkilediği spinal segmentin seviyesine göre solunum etkilenebilir. Spinal şok motor ve duyu işlev hasarının yanısıra otonomik liflerin etkilenmesiyle oluşmaktadır. Kan basıncı düşmesi, bradikardi ve periferik dilatasyon ile seyrederek T6 düzeyinin altındaki lezyonlarda görülmemektedir.

**Tam Lezyon:** Lezyon altında kalan vücut kısmında motor ve duysal işlevler tamamıyla kaybolmuştur. Alt servikal lezyonlarda solunum bozular. Nörojenik şok lezyonun seviyesine göre oluşabilir. Sfinkter tonus kontrolü yoktur, iç organlarda retansiyon ve ileus tablosu görülür. Daha yüksek seviyelerde Horner sendromu da oluşabilir. Başlangıçta görülen flask tipi paralizi, ilerleyen haftalarda spastik paraliziye dönüşür. Prognozu kötüdür (87).

**Kısmi lezyonlar:** Santral kord sendromu, anterior kord sendromu, posterior kord sendromu, Brown-Sequard sendromu, konus medullaris ve kauda equina sendromları

-Santral kord sendromu: Üst ekstremitelerde daha belirgin olan motor işlev kayıplarıdır. Genellikle ağrı ve ısı duyuları etkilenir. Başlangıçta görülen kuadriplejide, kısa süre içinde bacaklarda düzelme ile başlar. En sık görülen kısmi yaralanma şeklidir (89).

-Anterior kord sendromu: Anterior spinal arter oklüzyonuyla oluşanklinik tablo, prognozu en kötü kısmi lezyon şeklidir. Lezyon seviyesinin altında paralizi, ağrı ve ısı duyusu kaybolur. Dokunma, titreşim ve pozisyon duyuları sağlamdır (89).

-Posterior kord sendromu: Kordun posterior yarısının kortikospinal yollar ve posterior kolonuda içecek şekilde hasara bağlı olarak motor ve propriyosepsiyon kayıpları olmaktadır. Spinotalamik işlevler korunmuştur (87).

-Brown-Sequard sendromu (yarı kesi): Sıklıkla penetran yaralanmalarda oluşur. Lezyon seviyesinin altında aynı tarafta motor ve propriyosepsiyon kayıp, karşı tarafta ağrı ve ısı duyusu kayıp olmaktadır. Hafif dokunma duyusu sağlamdır. Kord travmalarında prognozu en iyi olan tiptir (90).

-Kauda equina ve konus medullaris sendromu: “Kauda Equina” denilen omurganın kalça kemiği ile birleştiği L5-S1 seviyesinden itibaren başlayan sinir köklerinin yoğun olduğu bölgede sinirlere bası nedeniyle motor, duyu ve mesane

fonksiyonların kesintiye uğraması halidir. Asimetrik alt motor nöron tipi pareziler ve sfinkter tonus kusurları olmaktadır. Sadece konus medullaris etkilenirse sfinkter bozukluklar ön planda görülür (89). Reversible sendromlardan kord konküzyonunda ise motor ve duysal fonksiyonların geçici işlev kaybı vardır. Bozulan fonksiyonlar dakikalar ve saatler içinde düzelir (87).

### **2.1.7 AOY'DA Tedavi**

AOY'nın patofizyolojisi hakkında geniş bir bilgi birikimine sahip olunmasına rağmen, hastalık ile baş etmeyi sağlayan, etkili, kalıcı, evrensel olarak kabul görmüş bir tedavisi yoktur. Özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir. AOY'da tedavi yaklaşımları cerrahi ve cerrahi olmayan tedavi yaklaşımları olarak iki ana grupta sınıflandırılmaktadır.

#### **2.1.7.1 Cerrahi tedavi yaklaşımları**

**2.1.7.1.1 Dekompresyon:** AOY'da ilk denenen cerrahi tedavi yöntemlerinden olup hastalara dekompressif laminektomi yapılmıştır. Görüntüleme yöntemlerinin yeterli olmamasına bağlı basının nerede olduğunun gösterilememesi, posterior girişim tekniklerinin bilinmemesi ve laminektomi sonrası stabilizasyon yapılmaması nedeniyle operasyon sonrasında tekrar stabilite kaybına bağlı bası ortaya çıkabilmekteydi. Dekompressif laminektominin yararı konusunda ortaya çıkan kuşku nedeniyle yapılan araştırmalar; erken dekompresyon sadece inkomplet spinal kord yaralanmasında faydalı olabileceği yorumlarını ortaya koymuştur.

**2.1.7.1.2 Miyelotomi:** AOY'da miyelotomi ile ilgili fikirler arasında çelişkiler vardır. Miyelotominin yararlı etkisi olduğunu savunanlar bunu artan intramedüller basıncın azalmasına, kan ve vazoaktif maddelerin ortamdaki uzaklaştırılmasına bağlanmıştır. Ancak miyelotomi ile debride doku ile birlikte işlev görebilecek dokularında eksize edildiği ve miyelotominin zararlı olabileceği de bildirilmektedir. Sıçanlarda dorsal miyelotomi ile posteriordan anteriora kadar uzanan tam miyelotomiyinin karşılaştırıldığı bir çalışmada dorsal miyelotominin yararlı olmadığı, tam miyelotominin faydalı olduğunu bildirmiştir (91).

**2.1.7.1.3 Fetal Doku Transplantasyonu:** Son yıllarda yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda fetal doku transplantasyonu denenmeye başlanmıştır. Daha çok striatal, neokortikal ve hipokampal bölgelere yönelik yapılmaktadır. Ayrıca deneysel omurilik yaralanmasında konakçı doku ile greft arasında aksonal uzanımlar gösterilmiştir. Sıçanlarda segmental refleks fonksiyonları ve lokomotor fonksiyonun etkilendiği gösterilmiştir (92).

#### **2.1.7.2 Cerrahi olmayan tedavi yaklaşımları:**

Spinal kord yaralanması nörojenik şokla sonuçlanır. Şokun ciddiyeti yaralanmanın anatomik seviyesi ve büyüklüğü ile alakalıdır. İskemik yaralanmayı artırıcı sistemik hipotansiyon ve hipoperfüzyonun önlenmesine yönelik tedavi önemlidir. AOY'da travmanın yarattığı patofizyolojik mekanizmalar göz önünde bulundurularak, üzerinde çalışılmış ve çalışılmaya devam edilen farmakolojik tedavi yöntemleri değerlendirilmelidir.

**2.1.7.2.1 Metilprednizolon:** Omurilik yaralanmasında kullanılan temel farmakolojik ajanlardan biridir. Lipid peroksidasyonu oluşumu engellenir. İntraselüler-ekstraselüler kalsiyum akışını stabilize ederek, hücrenin enerji durumunun ve asit baz dengesinin restorasyonunda etkilidir. Omurilik kan akımını arttırır, nöroflaman dejenerasyonunu azaltır. Deneysel çalışmalardan sonra klinik çalışmalarla ve plasebo kontrollü bir çalışma ile yararları gösterilmiştir. Travmadan hemen sonra metilprednizolon verilen hastalardaki iyileşme, travmadan 8 saat sonra metilprednizolon uygulanan hastalarla karşılaştırıldığında bir yılın sonunda 8 saat sonra başlanan hastalarda daha az nörolojik düzelme geliştiği bildirilmektedir. Bu çalışma ile omurilik yaralanmasından sonraki ilk 8 saat içinde metilprednizolon tedavisi rutin uygulanmıştır (93).

**2.1.7.2.2 Ganglioizid:** Memeli santral sistemi hücrelerinde bulunan bir glikolipiddir. Deneysel çalışmalarda nöroprotektif ve nöronal fonksiyon restorasyonunda potansiyel etkilerinin olduğu, in vitro çalışmalarda da nöron koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. İnmede ve diabetik nöropatide nöroprotektif etkileri olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (94).

**2.1.7.2.3 Tirilazad:** Lipid peroksidasyonunu inhibe ederek, antipolitik ve membran stabilize edici etki gösterir. Hidrojen peroksit ve süperoksit serbest radikallerinin tutucusudur. Omurilik kan akımını artırır. Çalışma sonucunda klinik kullanıma yönelik rasyonel bir temel olmadığı ortaya konmuştur (93).

**2.1.7.2.4 Eksitatör aminoasit antagonistleri:** Eksitatör aminoasitler hücre içine kalsiyum girişini başlatırlar. Kalsiyumun hücre içine girişi ile hücre ölümüne kadar giden reaksiyonlar zinciri başlar. Eksitatör aminoasit reseptör antagonistlerinin omurilik yaralanma modellerinde alt ekstremitte fonksiyonlarını arttırdığı, nörolojik fonksiyonlarda düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir (94).

**2.1.7.2.5 Kalsiyum kanal blokerleri:** Spinal travmadan sonra verilen kalsiyum kanal blokerlerinin, travmayı takiben oluşan vazospazmı önleyerek gelişecek iskemiye azaltabildikleri gösterilmiştir. Selektif olarak santral sinir sistemi damarlarına etki ederek periferik vazodilatasyonu önler. Motor ve somatosensoryal uyarılmış potansiyeller ölçülerek artmış perfüzyonun aksonal perfüzyonu iyileştirdiği de gösterilmiştir (95). Spinal kord hasarında travmadan sonra uygulanan diltiazem hem vasküler düz kasında membran depolarizasyonunu engelleyerek spinal iskemiye azaltır hemde kalsiyumun hücre içine göçünü azaltır. Kalsiyum sekonder spinal hasarda apoptoz sürecinde etkilidir. Kalsiyum kanal blokerleri bu sürecin önlenmesinde de etkilidir.

**2.1.7.2.6 Magnezyum:** Kontüzyon yaralanmalarında nöroprotektif bir ajandır. Nöral yapılarda glutamat toksisitesini önler. Serbest radikal oluşumunu azaltarak nöral yapılarda vazoprotektif etki sağlar. Magnezyum eksikliğinde endotel hücrelerinde serbest radikal kaynaklı intraselüler oksidasyon ve sitotoksikite ortaya çıkar (96).

**2.1.7.2.7 Hipotermi:** Serebral metabolizmanın azaltılması ile serbest radikal oluşumu, beyin ödemi, intraselüler kalsiyum konsantrasyonu azalır. Epidural ya da intratekal kateterler yolu ile soğuk salin infüzyonu verilerek lokal soğutma yapılabilir (97).

**2.1.7.2.8 Eritropoetin:** Lipid peroksidasyonunu azaltarak nöroprotektif etki oluşturduğu sıçanlarda gösterilmiştir. Apoptozu azaltmak, inflamasyonu baskılamak, proliferasyonuna katkıda bulunmak bildirilen etkileridir (98).

**2.1.7.2.9 Barbitüratlar:** Hızlanan metabolik süreci yavaşlatıcı, hızlanan metabolizmanın zararlı etkilerini azaltıcı etkisinin görülmesi ile omurilik yaralanmasında kullanılması önerilmiştir. Deneysel çalışmalarda thiopentalin parapleji oranını düşürdüğü, histopatolojik görünümde ve somatosensoriyel evoked potansiyellerde düzelme yarattığı bildirilmiştir.

**2.1.7.2.10 İnterlökin:** Antiinflamatuvar sitokin olan IL-10, T helper hücreleri, monosit, makrofaj, mikrogliya ve astrositler tarafından sentezlenirler. Farklı iki AOY modelinde yaralanmadan 30 dakika sonra uygulanan sistemik IL-10 ile sistemik inflamasyonun azaldığı görülmüştür. IL-10'un nöroprotektif olduğu ve motor fonksiyonu iyileştirdiği belirtilmektedir (99).

**2.1.7.2.11 Kaspaz inhibitörleri:** Apoptozun yoğun olduğu medüller oligodendrositlerdir ve apoptoza etki ederek oligodendrosit kaybında ciddi şekilde azalır. Nörolojik dokudaki kaspaz-3 yolu farmakolojik açıdan önemlidir. Kaspaz inhibitörleri birçok deneysel modelde uygulanmıştır (100).

**2.1.7.12 Hiperbarik oksijen tedavisi:** Omurilik yaralanmasından sonra ciddi doku hipoksisi ortaya çıkar. Doku hipoksisini azaltmak için oksijen tedavisi önerilmektedir. Oksijenin dokulara penetre olabilmesi için yüksek basınçlarda verilmesi gerekmektedir. Saf oksijenin maske, oksijen çadırı veya endotrakeal tüp ile 1 atmosfer basınç altında solutulmasıyla uygulanan bir tedavi yöntemidir. Oksijen parsiyel basıncının ve konsantrasyonunun artması ile fizyolojik etkileri oluşur. Bu tedavi yöntemi son yıllarda ülkemizde kullanımı artmıştır (101).

## 2.2 İsoetretinoin

Retinoidler hücre büyümesi, farklılaşması, tümör gelişiminin inhibisyonu ve immünomodülatuar etkileri olan moleküllerdir. İsoetretinoin (13-cis retinoid) orta ve şiddetli akne vulgaris formlarında ve diğer şiddetli akne tiplerinde 1980'lerden beri yaygın olarak kullanılan 1. jenerasyon doğal bir retinoiddir (102,103). İsoetretinoin tedavisinin primer endikasyonları şiddetli papülopüstüller, nodüller, tedaviye dirençli,

skar bırakan veya psikolojik strese yol açan akne, akne konglobata, akne fulminans ve antibiyotiklerin indüklediği Gram-negatif folikülitir (102,104). Ayrıca rozase, saçlı derinin dissekan sellülit, seboreik dermatit, hidradenitis süpurativa, folikülit, keratinizasyon bozuklukları, nöroblastom, deri yaşlanması ve verruka vulgaris gibi birçok hastalığın tedavisinde de kullanılmaktadır (102,105).

**2.2.1. Farmakolojik etkisi:** İzotretinoin hücresel retinol bağlayıcı protein veya retinoid asit nükleer reseptörleri olan retinoic acid receptor (RAR) ve retinoid X receptor (RXR)'e direk bağlanma özelliği göstermese de hücre içinde RAR ve RXR'ye bağlanıp metabolitlerine dönüşen ön ilaçtır. Biyolojik olarak etkili önemli metabolitleri vardır. Metabolit olan 13-cis retinoik asitin yarı ömrü 20 saattir. Kanda başlıca albumin olmak üzere %99 proteinlere bağlanarak taşınır. Karaciğerde metabolize edilerek, enterohepatik dolaşıma katılır, idrar ve feçesle atılır. İlaç kesildikten 1 ay sonra tamamen vücuttan atılır (102,105).

**2.2.2. Etki mekanizması:** Bilinen en önemli etkisi sebosit proliferasyonunu, terminal sebosit farklılaşmasını ve sebace bez büyüklüğünü azaltarak sebum üretimini baskılamasıdır. Sebum süpresif etkisinin sebosit apoptozundan kaynaklandığı ve bunu apoptotik protein tumor necrosis factor (TNF)-ilişkili apoptoz indükleyen ligandı (TRAIL) eksprese ederek, ayrıca insülin benzeri growth faktör (IGF) bağlayan protein-3 ve neutrophil gelatinase associated lipocaline (NGAL) düzeylerini artırarak yaptığı öne sürülmektedir (106,107). Melnik hipotezinde isotretinonin, sebosit apoptozu ile akne iyileşme yaptığını; ayrıca nöroblastoma, lösemi ve lenfoma gibi neoplazilerde malign hücre apoptozuna yol açarak da tedavi edici etkiler gösterdiğini bildirmiştir (108).

Akne patogenezinde bilinen tüm faktöre etki ettiği gibi immünolojik, hormonal ve inflamatuvar etkileri de keşfedilmiştir. İzotretinoin forkhead box sınıfı O (FoxO)1'i upregüle ederek doğal bağışıklık sistemini stimüle eder; T hücre cevabını azaltır ve anti-inflamatuvar etki gösterir (102,109). T lenfositlerden salınan TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-17 ve IFN- $\gamma$  düzeylerini azaltarak immünoregülatuvar etkilere de neden olmaktadır (110). Akne patogenezinde matris metalloproteinazların (MMP) da rol oynadığı bilinmektedir (111). İzotretinoin diğer tedavilerden farklı olarak skar oluşumunu azaltmaktadır, bunu MMP-9 ve MMP-13 azaltarak yaptığı öne

sürülmektedir (112). Hormonal etkisinin doz bağımlı olarak ortaya çıktığı, kortizol, tiroid hormonu, ACTH ve büyüme hormon düzeylerini etkilediği gösterilmiştir (102,113).

**2.2.3. Kullanım şekli ve dozu:** İzotretinoin lipofilik olduğu için mutlaka yağlı yiyeceklerle birlikte tok olarak alınmalıdır. Aksi durumda etkinliği azalmaktadır (102). Tek veya iki doz şeklinde uygulanabilmektedir, iki ayrı doz şeklinde alındığında etkinlik aynı olsa da kutanöz yan etkiler azalmaktadır. Akne standart doz 0,5-1 mg/kg/gün arasında olup orta ve şiddetli akne vulgariste tercih edilmektedir. Yüksek doz tedavi ise 1 mg/kg/günün üzerindeki dozlar olup şiddetli akne vulgariste kullanılmaktadır (104). Doz hesaplaması kümülatif dozlar esas alınarak yapılmaktadır. Hafif akne vulgariste düşük kümülatif dozlar tercih edilebilirken şiddetli akne vulgariste 120-150 mg/kg kümülatif doz hedeflenmektedir (102,114).

**2.2.4. Yan etkileri:** Çok sayıda yan etkisi vardır. Mukokutanöz ve sistemik olarak iki gruba ayrılan yan etkilerden en sık mukokutanöz yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Keilit, kserozis, retinoid dermatiti, gözlerde kuruluk, burun kanaması, vajinal kuruluk, pruritus ve fotosensitivite ortaya çıkan mukokutanöz bulgulardır. Daha nadiren paronişi, tırnakta kırılabilirlik, piyojenik granülom görülebilir. Saç dökülmesi bildirilen az sayıda olgu da bulunmaktadır (102,103). Mukokutanöz bulguların sık görüldüğü olgularda en doğru yaklaşım ilacın dozunu azaltmaktır. Hastalara nemlendirici ve güneşten koruyucu kullanmaları önerilebilir. Yaz aylarında fotosensitivite artacağından tedaviye kış aylarında başlamalıdır (106,115).

Gebelik kategorisi X olan isotretinoinin en önemli ve sakınılması gereken yan etki teratojenitedir. Spontan abortusun yanı sıra kraniyofasiyal, kardiyak, timüs, paratiroid bezler ve santral sinir sistemini etkileyen ciddi konjenital malformasyonlara neden olabilmektedir (103). Kulakta anotia, mikropinna, ekstansör işitme kanallarının yokluğu, mikroftalmi, fasiyal dismorfizm, yarı damak gibi ekstansör anomalilere yol açar. İnternal anomaliler ise serebral ve serebellar malformasyon, hidrosefali, mikrosefali, kraniyal sinir defekti, timüs bezinde anomali veya kardiyovasküler anomaliler görülebilecek defektlerdir (102,103)

Gastrointestinal yan etkileri kolit, özefajit, özefagial ülser, jinjival hemoraji, jinjivit, bulantı ve spesifik olmayan gastrointestinal semptomlar olarak belirtilmektedir. Ayrıca az sayıda olguda pankreatit gelişimi bildirilmektedir (102).

Psikiyatrik yan etkileri tartışılmaktadır. Çok sayıda psikiyatrik yan etki bildirilmiştir. Ancak gerçek bir ilişki henüz kanıtlanamamıştır. Yapılan çalışmalarda isotretinoinin depresyon, öz kırım girişimi, intihar, psikoz, duyu durum değişiklikleri, saldırganlıkta artış ve bipolar bozukluğa yol açtığına dair olgu sunumları veya çalışmalar bulunmaktadır (116,117). Ancak akneli hastalarda depresyon, anksiyete, sosyal fobi ve somatoform bozuklukların geliştiğine dair yayınlar da bulunmaktadır (102,118). Geniş süreli yayınların derlendiği bir çalışmada isotretinoinle tedavi edilen hastaların çok az bir kısmında psikiyatrik yan etkilerin geliştiği kanısına varılmıştır (119).

Kas iskelet sistemine ait yan etkiler açısından hastalarda artrit, artralji, ligament ve tendon kalsifikasyonu, kemik mineral dansitometrisinde azalma, miyalji, prematür epifiz kapanması, skeletal hiperosteoz, tendinit ve halsizlik gelişebileceği bildirilmiştir (102).

Göz kuruluğu, gözyaşında azalma, konjonktivit ve S. aureus kolonizasyonunda artış gibi oftalmik yan etkileri vardır. Kesin ilaca bağlı olduğu kabul edilen yan etkiler; meibomian bez salgısında azalma ve atrofi, intrakraniyal basınç artışına bağlı papil ödemi, oküler kuruluk, korneal opasiteler, keratit, miyopi ve karanlığa adaptasyonda azalmadır. Muhtemel yan etkiler; geri dönüşlü renkli görmede azalma, dev kaldırım taşı papilla, korneal ülser, karanlığa adaptasyonda kalıcı kayıptır. Olası yan etkiler ise kalıcı göz kuruluğu, korneal ülserler, diplopi ve göz kapağı ödemidir (102,120,121). Ayrıca isotretinoinin rodopsini azalttığı ve gece körlüğüne neden olabileceği, pilotluk gibi mesleklerde dikkatli kullanılması gerektiği bildirilmektedir (111).

İsotretinoinin yan etkileri laboratuvar parametrelerine de yansımaktadır. Kan lipitlerinde ve karaciğer enzimlerinde yükselme ortaya çıkabilmektedir (102,114). Ancak yakın zamanda yayınlanan sistematik derlemelerde hiperlipidemi ve

hepatotoksik etkileri olsa da bunların çok sık olmadığı, genellikle doz bağımlı olduğu ve tedavi başladıktan kısa süre sonra normale döndüğü bildirilmektedir (122,123).

İsotretinoinin kardiyak sistem, nefrolojik sistem ve işitme üzerine belirgin bir yan etkisi olmamakla birlikte az sayıda olgu bildiriminde olumsuz sonuçlar bildirilmiştir (102). Solunum sistemi üzerinde belirgin bir yan etkisi bulunmasa da özellikle mukozalarda kuruluk yaptığı, mukosilyer transportu azalttığı ve nadiren astım alevlenmesi ve respiratuvar enfeksiyon riskini artırdığı öne sürülmektedir (102).

### **2.2.5 Santral sinir sistemine etkileri**

Retinoidlerin; limbik sistem, amigdala, prefrontal korteks ve hipokampusta bulunan retinoid reseptörlerine bağlanarak gen transkripsiyonunu etkiledikleri deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (124). Limbik sistemdeki etkilerine bağlı depresyona eğilimi ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca dopamin, serotonin ve norepinefrini etkileyerek anksiyete ve depresyona neden olurlar (124,125). İnsanda orbitofrontal korteksi etkileyerek beyin metabolizmasında yavaşlama yaptığı ve emosyonel bozukluklara yol açabildiği düşünülmektedir. Hipokampusta nörojenezi inhibe ederek de depresyon oluşumunda rol oynadığı belirtilmektedir (124). Yapılan moleküler çalışmalarla orbitofrontal metabolizmanın artması ve dopaminerjik sistemin aktivasyonu, serotonin ve dopamin seviyelerini değiştirerek obsesif kompulsif bozukluğu yol açabileceği de öne sürülmektedir (125,126). Ancak insan çalışmaları ile bu durum yeterince açıklanamamıştır.

Retinoidler nadiren idiyosenkrazik psikolojik reaksiyonlara da neden olabileceği, bu yan etkilerin özellikle genetik olarak retinoid reseptörlerinde mutasyon olan kişilerde ortaya çıktığı düşünülmektedir (102). Retinoid reseptör mutasyonlarının apopitoza yol açtığı, bu mutasyonun da bireysel olarak depresyon, psikoz gibi çeşitli psikiyatrik yan etkilere yol açabileceği vurgulanmaktadır (102,124). Bu durumun açıklığa kavuşturulabilmesi için genetik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut koşullarda psikiyatrik hastalık bulgusu olan veya 1. derece yakınlarında bipolar bozukluğu olan hastaların iyi takip edilmesi, ilacın başlanmasında seçici davranılması ve olası semptomlar konusunda erken

müdahale edilerek psikiyatriye yönlendirilmesi önerilmektedir (104,114). Depresyon geliştiği düşünülen olgularda psikiyatri konsültasyonun yanı sıra, ilacın dozunun azaltılması veya tamamen kesilmesi ve gerekli durumlarda antidepresan tedavinin eklenmesi önerilmektedir (103,114).

### **2.2.6 Yara iyileşmesindeki rolü**

İzotretinoinin yara iyileşmesi üzerine etkisi tartışılmalı bir konudur. Daha çok yara iyileşmesini geciktirdiği bu nedenle cerrahi müdahalelerin ertelenmesi gerektiği belirtilmektedir (103). İzotretinoin tedavisinin dermatolojik, cerrahi ve kozmetolojik uygulamaların yara iyileşmesini geciktirdiği veya keloide yol açtığı konusunda olgu bildirimleri mevcuttur (127,128). İzotretinoin tedavisi sırasında veya tedavi kesildikten hemen sonra girişimler yapılan 1485 hastanın gözden geçirildiği derlemede manuel dermabrazyon, yüzeysel kimyasal peeling, kutanöz cerrahi, epilasyon ve fraksiyonel ablatif ve nonablatif lazer tedavilerinin geciktirilmesinin yararlı olacağı belirtilirken, mekanik dermabrazyon veya full ablatif lazer tedavilerinin isotretinoin tedavisi alırken veya hemen sonrasında yapılmaması gerektiği sonucuna varılmıştır (129). Ancak tam tersini bildiren çalışmalar da mevcuttur. Yakın zamanda yapılan geniş hasta serisini içeren multimerkez bir çalışmada ise keloid gelişme riskinin %0,4 ile plasebodan farksız olduğu ve oldukça az hastada ortaya çıktığı, isotretinoin kullanan hastalarda girişimsel işlemlerin kolaylıkla yapılabileceği ortaya konulmuştur (130). Bu yan etkilerin kişisel yatkınlığa bağlı geliştiği yönünde gelişen fikir birliğinden dolayı uygulama öncesi hastanın ön kol bölgesi test bölgesi olarak seçilip, bu bölgeye test amaçlı uygulama yapıp, kişinin yara iyileşmesine verdiği cevap değerlendirildikten sonra gerçek uygulamanın yapılması önerilmektedir (102).

### **2.2.7 Tedavinin takibi**

Hepatotoksik ve hiperlipidemi yapıcı etkileri olması nedeniyle tedavi sırasında laboratuvar incelemesinin yapılması gerekmektedir. Karaciğer fonksiyon testlerinde ve lipitlerdeki değişiklik genellikle 2. ayda ortaya çıktığı için bu ayda tetkiklerinin yapılması uygundur. İkinci aydan sonra çok sık olmayan aralıklarla

kandaki lipit düzeyine ve karaciğer fonksiyon testlerine yeniden bakılmalıdır. Bilinen karaciğer hastalığı olan, hepatotoksik ilaç kullanımı öyküsü olan, metabolik sendromu olan kişilerde sık monitorizasyon uygundur. Hematolojik parametreler genellikle bozulmaz, bu nedenle tam kan tetkikinin yapılması gerekli değildir (102,104). Ortaya çıkan yan etkiler doz bağımlıdır ve tedaviden hemen sonra normalleşir. Tedavi esnasında karaciğer enzimlerinde artış gelişirse ilacın dozu azaltılmalı; normale dönmezse veya hepatit gelişirse ilaç kesilmelidir. Bu noktada alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferazın (AST) yanı sıra mutlaka gama-glutamil transpeptidaz (GGT) da bakılmalıdır (102,104).



### **3. MATERYAL ve METOD**

Çalışmamız Düzce Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Hayvan Laboratuvarı'nda Aralık 2020-Şubat 2021 tarihleri arasında yapılmıştır. Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir. Etik Kurul onayı Düzce Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 2020 /11/03 karar numarası ile verilmiştir.

Çalışmamızda 2-4 haftalık, 200-250 gr ağırlığında toplam 36 adet Sprague Dawley cinsi dişi erişkin sıçan kullanıldı.

#### **3.1. Deney Grupları**

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

Grup 2 (Travma) (n:6): T7-T9 seviyesinde laminektomi yapılan, dura intakt bırakılarak bir dakika boyunca medulla spinalise anevrizma klipi ile kompresyon uygulanan, herhangi bir tedavi verilmeyen grup.

Grup 3 (Travma + İstretinoin (7,5 mg/kg/gün)) (n:12): T7-T9 seviyesinde laminektomi yapılan anevrizma klipi ile bası uygulandıktan sonra gavaj yoluyla 7,5 mg/kg/gün dozunda isotretinoin verilen grup. Bu grup içerisindeki sıçanların 6'sı 2. haftanın sonunda, kalan 6 sıçan ise 4. haftanın sonunda sakrifiye edilerek patolojik inceleme için gönderilmiştir.

Grup 4 (Travma + İstretinoin (15 mg/kg/gün)) (n:12): T7-T9 seviyesinde laminektomi yapılan, anevrizma klipi ile bası uygulandıktan sonra gavaj yoluyla 15 mg/kg/gün isotretinoin verilen grup. Bu grup içerisindeki sıçanların 6'sı 2. haftanın sonunda, kalan 6 sıçan ise 4. haftanın sonunda sakrifiye edilerek patolojik inceleme için gönderilmiştir.

Her grup ayrı kafeslerde uygun şartlar altında muhafaza edildi (Şekil 3a), gavaj yöntemiyle ilaç karışımı verildi (Şekil 3b), takipleri ve ilaç verilmiş günleri ayrı ayrı yazılarak tüm veriler kayıt altına alındı. Günde iki kez kontrol edilerek manuel mesane basısıyla idrar çıkışları sağlandı.



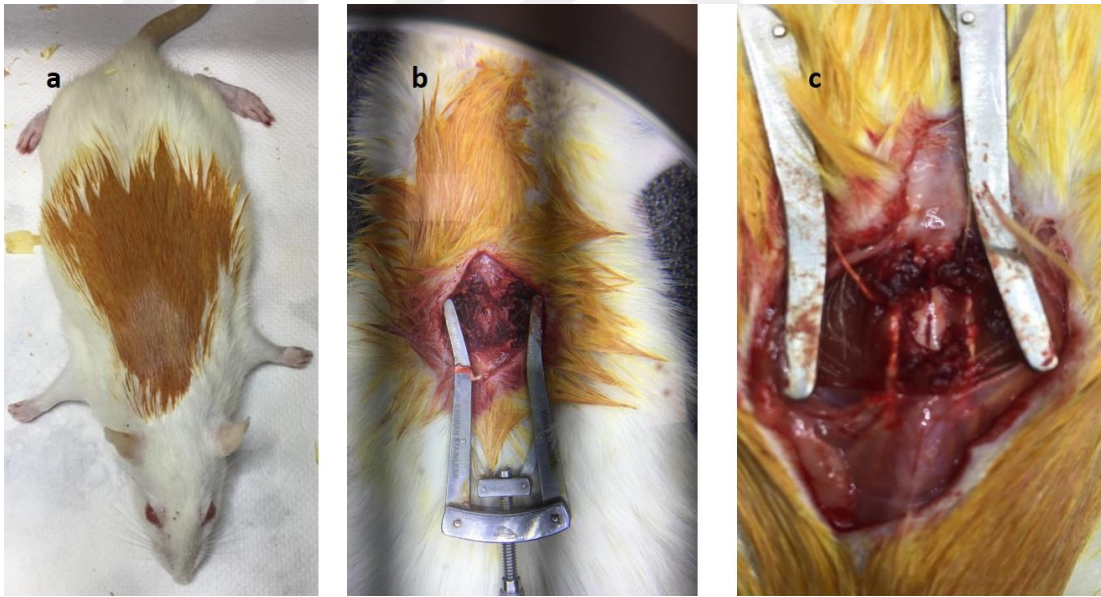
**Şekil 3.** a-Sıçan kafeslerinin genel görünüşü, b-Gavaj ile beslenme, isotretinoin verilşi

### 3.2. Anestezi

Anestezi öncesinde tüm sıçanların normal motor fonksiyonda olup olmadığı kontrol edildi. Her rata 90mg/kg Ketamin (Ketalar, Parke-Davis Eczacıbaşı-İstanbul) ve 10 mg/kg Ksilazin intramüskuler enjeksiyonu uygulandı.

### 3.3. Cerrahi işlem

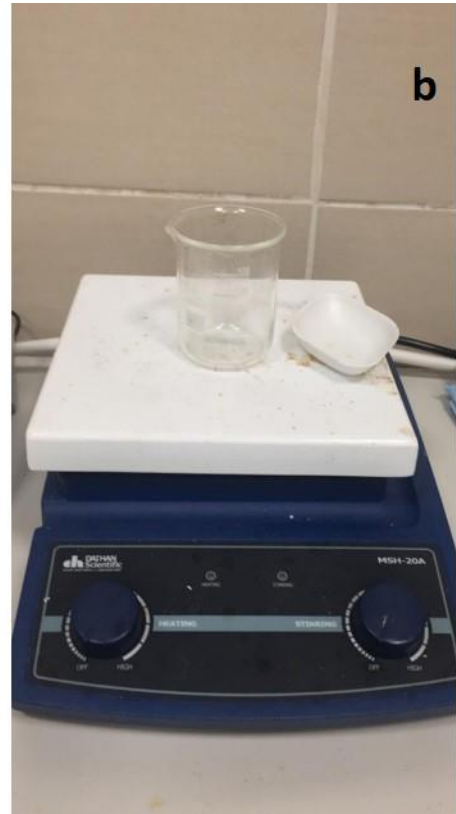
Anestezi uygulanmış sıçanlar, cerrahi uygulanacak tespit tahtasına prone pozisyonda yerleştirildi (Şekil 4a). İnterskapular mesafe kontrol edilerek, belirlenen torakal cerrahi sahası (T5-T12) traşlandı, Polivinil prolin iyot (Batticon sol, Adeka, Samsun) ile dezenfekte edildi (Şekil 4b). Operasyon süresince ısıtıcılar kullanılarak, ısı optimal seviyede (37 °C) tutuldu.



**Şekil 4.** a-Cerrahi öncesi sıçanların prone pozisyonda povidon iyot ile dezenfeksiyonu, b-Ekartör yerleştirilmesi, c- Laminektomi sonrası dura görünümü

Torakal 7-10 seviyesini ortalayan yaklaşık 2 cm'lik vertikal cilt insizyonuyla, cilt ciltaltı geçilerek fasiyaya ulaşıldı, 15 no'lu bistüri ve dişli penset yardımıyla

paravertebral kaslar sıyrıldı, mastoid ekartör yerleştirildi (Şekil 4c). Laminalar ortaya konuldu. T 7-8-9 total laminektomi yapıldı. Spinal kord ortaya konuldu (Şekil 4c). Duramaterde travma oluşturulmadan önce laminalar lateralden alındı, duramaterde tam kat anevrizma klipi ile kompresyon uygulanması 1 dakika süreyle yapıldı (Şekil 5a). Hemostaz sağlandı, paravertebral adaleler ve cilt usulüne uygun 2/0 vicryl ile primer suture edildi. Sıçanlar normal oda ısısında uyandırıldı ve gruplar için hazırlanmış ayrı kafeslere yerleştirildi. Cerrahi işlemlerde grup 1'e yalnızca laminektomi, grup 2,3 ve 4'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 5. a-**Anevrizma klipi uygulanması, **b-** 20A- analog ısıtıcılı manyetik karıştırıcı cihazı

### **3.4. İsoetretinoin elde ediliş ve veriliş yöntemi, sıklığı**

**3.4.1 Elde ediliş:** İsoetretinoin etken maddesi için 20 mg yumuşak kapsüller (Roaccutane®, Roche 20 mg yumuşak jelatin kapsül) kullanıldı. Gavaj ile verilebilmesi için sıvı hale getirildi. Bu işlem için 20a-analog ısıtıcılı manyetik karıştırıcı cihazı kullanıldı (Şekil 5b). Cihazın ısı ve devir hızı orta seviye olarak ayarlandı. Kapsül sıvı hale gelince, beher içerisinde 3 kapsül içeriği ve 8 ml ayçiçek yağı eklenerek gavaj ile verilebilecek sıvı karışım elde edildi. Homojen sıvı karışım içerisinde 7,5 mg/ml isotretinoin olması sağlandı.

### **3.4.2 İsoetretinoin veriliş yöntemi ve sıklığı:**

Grup 1: Sıvı karışımı verilmedi.

Grup 2: Sıvı karışımı verilmedi.

Grup 3: 6 adet sıçana 15 gün boyunca, 6 sıçana da 28 gün boyunca her gün gavaj yöntemiyle isotretinoin 7,5 mg/kg/gün dozunda sıvı karışımı verildi.

Grup 4: 6 adet sıçana 15 gün boyunca, diğer 6 sıçana da 28 gün boyunca hergün gavaj yöntemiyle isotretinoin 15 mg/kg/gün dozunda sıvı karışımı verildi.

### **3.5. İyileşmeyi değerlendirilme kriterleri**

Hasar skoru muayene yöntemi olarak eğik düzlem (Şekil 6a) ve motor muayene (Drummond ve Moore kriterleri) (Tablo 9) kullanıldı. İsoetretinoinin 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 5 sn süresince eğik düzlemde kaymadan durduğu en yüksek açı puan olarak kayıt altına alınmaktadır (14,20). Sıçan yere paralel olan tablanın üstüne yerleştirildi, tabla belli açılarla kaldırıldı. Deneğin kaydığı açı 1.3.5.7.17.20 ve 28. günde kaydedildi.

### 3.5.2 Drummond Moore kriterleri ile değerlendirme

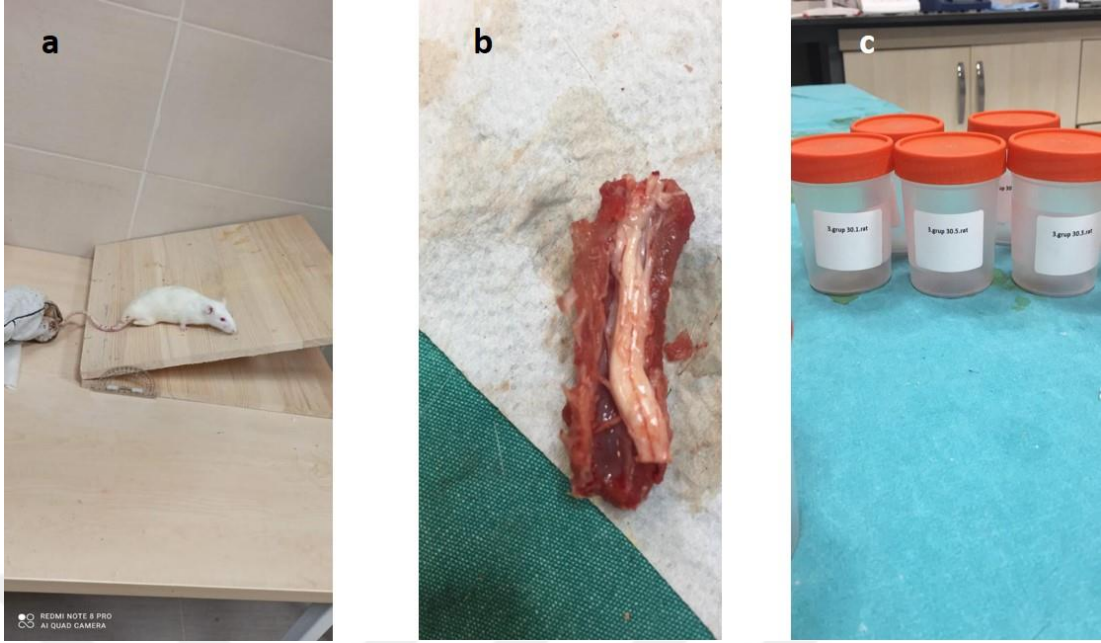
Sıçanların 1.3.5.7.17.20 ve 30. günlerde motor muayeneleri yapılarak kaydedildi.

**Tablo 9.** Drummond Moore kriterleri

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, yerçekimine 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

Grup 3'teki 6, grup 4'teki 6 sıçan 15 günün sonunda, grup 1'deki 6, grup 2'deki 6, grup 3'teki 6, grup 4'teki 6 sıçan ise 28 günlük takiplerinin sonunda 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 6b). Alınan örnekler hazırlanan %10 formaldehit içeren kaplara konuldu (Şekil 6c). Her bir sıçan grubu ve kaçınıcı denek hayvanı olduğu kapların üzerine not edildi. İncelemenin yapılacağı labarotuvara alındı.



**Şekil 6. a-**Eğik düzlem testi, **b-** AOY oluşturulan segment, **c-** Grupların ve sıçan numarasının yazıldığı kaplar

### 3.7 Rutin parafin takibi ve boyama protokolleri

#### 3.7.1 Rutin parafin takibi

Aşağıdaki sırayla yapıldı.

1. Dokular %4 formaldehit içinde yaklaşık 12-24 saat fikse edildi.
2. Fiksasyondan sonra 3 saat çeşme suyunda yıkandı.
3. Sırasıyla %70, %80 ve %90'lık etanol serilerinde 24 saat tutularak dehidrate edildi.
4. %100'lük etanolde 4 saat bekletildikten sonra ksilen içerisinde yaklaşık 5 dakika tutularak şeffaflştırma işlemi gerçekleştirildi.
5. Şeffaflştırılan dokular 3 saat (saat başı parafin değişimi yapıldı) 56°C'lik etüvde bulunan parafin içerisinde tutulduktan sonra kalıplara kondu. Oda sıcaklığında parafinin donmasını sağlandı.
6. Parafine gömülü dokuların blokları mikrotom için hazırlandı. Blokları mikrotoma yerleştirip 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Su banyosunda düzleşmeleri sağlandı. Süperfrost lamlar üzerine aktarılarak gece oda ısısında kurutuldu.

**3.7.2 Hematoksilen-Eozin boyası:** Sıçanlardan alınan doku örneklerinde hematoksilen eozin ile dokuların bütünlüğünü ve yapısını göstermek amaçlandı. Hematoksilen-Eozin boya protokolü aşağıdaki sırayla yapılmıştır.

Deparafinizasyon: Parafin kesitler önce 75°C sıcaklıktaki etüvde 40 dakika daha sonra ksilol-1 ve ksilol-2'de 15'er dakika bekletildi.

Hidratasyon: Kesitler %96'lık, %80'lik ve %70'lik etil alkollere sırayla 10'ar defa daldırılıp akan suda yıkandı.

Boyama: Hematoksilende 2 dakika bekletilip, asit alkole, amonyaklı suya 2 defa daldırılarak ve %70 lik etil alkole 10 defa daldırılarak preparat her işlemde sonra akan suda yıkanarak boyanmıştır.

Dehidratasyon: %70'lik, %80'lik ve %96'lık etil alkollere sırayla 10'ar defa daldırılıp, 1-2 dakika 75°C sıcaklıktaki etüvde kurutularak 10 dakika ksilolde bekletilip, ksiloldan çıkan ve oda sıcaklığında kuruyan lamalar entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı. Işık mikroskobu ile incelendi (Olympus Cx41-AxioCam Zeiss).

**3.7.3 Luxol Fast boyası:** Nöronal uzantıları göstermek ve incelemek amacıyla yapıldı. Luxol Fast boyama protokolü aşağıdaki sırayla yapılmıştır.

Patolojik doku kesitleri 15 µm lik düzende yapıldı. Parafin ksilolle uzaklaştırılıp, 100% alkolde alındı. Luxol fast blue çözeltisinde 2 saat 60°C boyandı, %95 alkolde yıkandı. Distile suda çalkalandı. Differansiyasyona %0.005 lityum karbonat ile 10 saniye olarak başlandı, %70'lik alkolde 30-60 saniye differansiye edildi. Distile suda çalkalanıp mikroskopta boyama kontrol edildi. Gri ve beyaz cevher belirgin olarak ayrılana kadar işlem 3 kez tekrar edildi, %1asetik asitteki %0,1 cresyl violet ile 10 dakika boyandı. Distile suda yıkandı, %70lik alkolde çalkalandı. Çekirdekler ve nissl maddesi menekşe-mor olana kadar differansiye edildi (yaklaşık 30 saniye). Hızla %100'lük alkolde çalkalanıp, şeffaflandırıldı ve kapatıldı.

**3.7.4 İmmünohistokimyasal boya:** Cleaved Caspase 3 immunohistokimya yöntemiyle de apoptoza giden hücreleri göstermek amaçlandı. Cleaved Caspase 3 antikoruna boyama protokolü aşağıdaki sırayla yapılmıştır.

1. Bir gece önceden 56°C'lik etüvde bekletilen kesitler ertesi sabah deparafinizasyon için iki kere 10'ar dakika ksilenlerden geçirildi ve her birinde 5 dakika olmak kaydıyla %100, %90, %80, %70'lik alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi.
2. Kesitler distile suda çalkalandı ve fosfat tamponlu tuz tamponunda (PBS; pH: 7,2-7,4) üç kez 5'er dakika yıkandı.
3. Antijenik maskelenmenin giderilmesi amacıyla, kesitler 0.01 M sitrat tamponuna (pH:6,0) konularak mikrodalga fırında 2 kere 5'er dakika 750Watt'ta kaynatıldı, 20 dakika boyunca oda ısısında soğumaya bırakıldı.
4. Hidrofobik kalemle etrafı çizilen kesitler, distile sudan ve ardından PBS'ten 5 dakikalık sürelerle geçirildi.
5. Endojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi amacıyla kesitler %3'lük hidrojen peroksit ile 15 dakika inkübe edildi.
6. Distile suda çalkalanıp PBS'te yıkanan kesitler oda sıcaklığında ve nemli ortamda özgül olmayan Immunoglobulin (Ig) bağlanmalarını önlemek amacıyla bloklama serumu ile 7 dakika muamele edildi.
7. Serumun fazlası alınarak kesitler, Cleaved Caspase 3 primer antikoru ile +4°C'de gece boyu inkübe edildi. Kontrol kesitlerine primer antikor yerine uygun izotip kontrol uygulandı.
8. Ertesi gün kesitler PBS ile 3 defa 5'er dakika yıkandı. Sonra sırasıyla, 30 dakika biyotinlenmiş sekonder antikor ve 30 dakika HRP-konjuge streptavidin ya da AP-konjuge streptavidin kompleksi ile oda ısısında nemli ortamda inkübe edildi. Her iki uygulama sonrasında PBS ile 3 defa 5'er dakika yıkama yapıldı.
9. Sinyalleri geliştirmek için dokular 5 dakika Di Amino Benzidin (DAB) ile muamele edildi ve musluk suyunda yıkandı.
10. Kesitlere Mayer's Hematoksilen ile zıt boyama yapıp geri takip yapılarak entellan kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

### **3.8 İstatistiksel analiz**

#### **3.8.1 Eğik düzlem ve Drummond Moore Kriterleri istatistik analizi**

İstatistiksel analizler SPSS v.22 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için posthoc Bonferroni düzeltmesi ile gruplar değerlendirilmiştir. Veriler ortanca, çeyrekler arası genişlik ve minimum-maksimum değerler ile özetlenmiştir. Kategorik değişkenler Fisher-Freeman-Halton test ile karşılaştırılmış, sayı ve yüzde şeklinde verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak dikkate alınmıştır.

#### **3.8.2 Histolojik istatistiksel analizler**

Farklı deney gruplarında Cleaved Caspase proteinlerinin immünohistokimya bulguları İmageJ programı ile değerlendirildi. Değerlerin analizi, GraphPad Prism 6 programı kullanılarak One Way ANOVA ve devamında Holm-Sidak metodu ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak  $p < 0.05$  kabul edildi.

## **4- BULGULAR**

Çalışmada her grupta 6 sıçan olan toplam 6 grup oluşturuldu ve 36 sıçan ile tamamlandı.

### **4.1 Motor Muayene Sonuçları**

Tüm deneklerin motor muayenesi 14. ve 28. gündeki sonuçlarıyla değerlendirildi. Değerlendirmede eğik düzlem açıları ve Drummond ve Moore kriterleri kullanıldı.

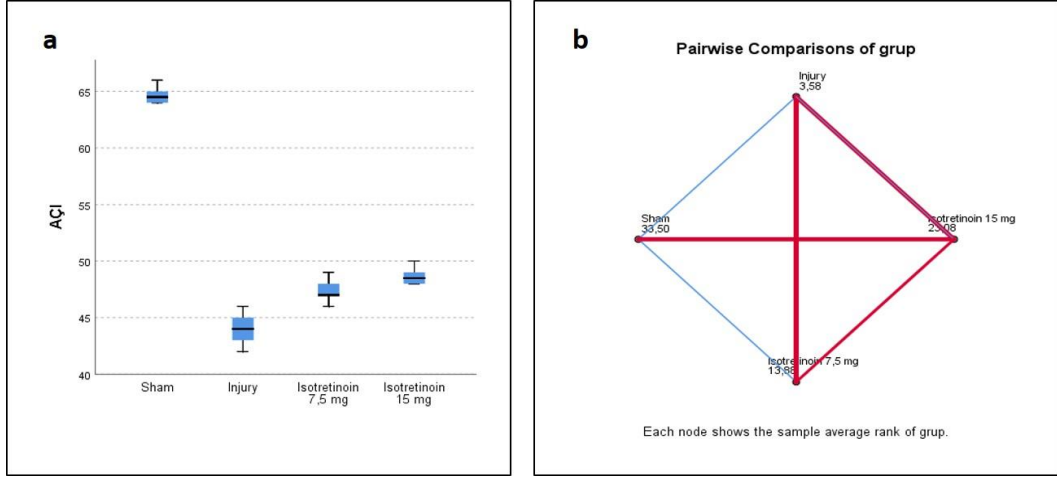
Eğik düzlem açılarının 14.gün değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,001$ ) (Tablo 10) (Şekil 7).

14.günde travma, isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün gruplarında eğik düzlem açısı sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (sırasıyla  $p<0,001$ ;  $p<0,001$  ve  $p=0,045$ ). Isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün gruplarında, travma grubuna kıyasla eğik düzlem açısı anlamlı şekilde artmıştı (sırasıyla  $p=0,048$  ve  $p<0,001$ ). Isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün grupları arasında ise 14.gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p=0,180$ ).

**Tablo 10.** Eğik düzlem ve Drummond ve Moore kriterlerinin 14. gün değerleri

	<b>Sham (n=6)</b>	<b>Travma (n=6)</b>	<b>İsotretionin 7,5 mg/kg/gün (n=12)</b>	<b>İsotretionin 15 mg/kg/gün (n=12)</b>	<b>p</b>
<b>Eğik düzlem açısı</b>	64,5 (1) [64-66]	44 (3) [42-46]	47 (1) [46-49]	48,5 (1) [48-50]	<b>&lt;0,001</b>
<b>Drummond ve Moore puanı</b>	4 (0) [4-4]	0 (2) [ 0-4]	1 (0) [0-1]	1 (0) [1-1]	<b>&lt;0,001</b>

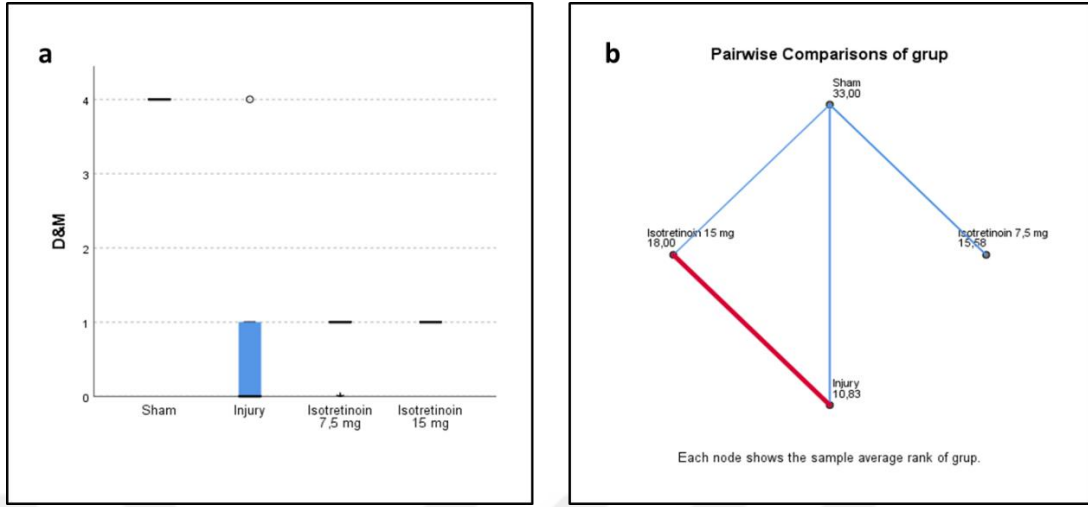
Veriler ortanca (ÇAG, çeyrekler arası genişlik) ve [minimum-maksimum] değerler şeklindedir.



**Şekil 7. a)** Gruplarda 14. Gün eğik düzlem açısı değerleri, **b)** Çoklu karşılaştırma sonuçları

14.gün Drummond ve Moore kriterlerinin değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p < 0,001$ ) (Tablo 13) (Tablo 11) (Şekil 8).

14.günde travma, isotretinoin 7,5 mg/kg/gün ve isotretinoin 15 mg/kg/gün gruplarında Drummond ve Moore kriterinin puanı sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$  ve  $p = 0,001$ ). Isotretinoin 7,5 mg/kg/gün ve isotretinoin 15 mg/kg/gün gruplarındaki Drummond ve Moore kriterinin değerleri travma grubuna benzer olarak saptandı (sırasıyla  $p = 0,291$  ve  $p = 0,111$ ). İsoetreionin 7,5 mg/kg/gün ve 15 mg/kg/gün grupları arasında da 14.gün anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ( $p = 0,510$ ).



**Şekil 8. a)** Gruplarda 14. gün Drummond ve Moore değerleri, **b)** Çoklu karşılaştırma sonuçları

**Tablo 11.** Gruplarda 14.gün Drummond ve Moore kriterinin skor dağılımı

	Sham (n=6)	Travma (n=6)	İsotretionin 7,5 mg/kg/gün (n=12)	İsotretionin 15 mg/kg/gün (n=12)	p
<b>Drummond ve Moore puanı</b>					
<b>0</b>	0 (%0,0)	4 (%66,7)	2 (%16,7)	0 (%0,0)	<b>&lt;0,001</b>
<b>1</b>	0 (%0,0)	1 (%16,7)	10 (%83,3)	12 (%100)	
<b>4</b>	6 (%100)	1 (%16,7)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	

Eğik düzlem açılarının 28.gün değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,001$ ) (Tablo 12) (Şekil 9).

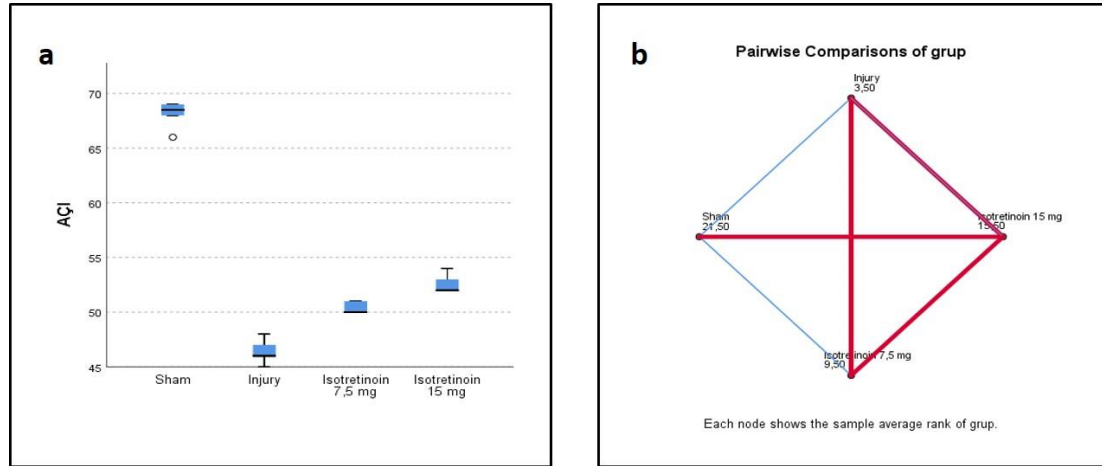
28.günde travma ve isotretionin 15 mg/kg/gün gruplarında eğik düzlem açısı sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşükken (sırasıyla  $p<0,001$  ve

p=0,003), sham grubu ile isotretionin 7,5 mg/kg/gün grubu arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p=0,139). Travma grubu ile isotretionin 7,5 mg/kg/gün grubu arasında da eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,139). İso-tretionin 15 mg/kg/gün grubunda eğik düzlem açısı travma grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur (p=0,003). Isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün grupları arasında ise 28. gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0,834).

**Tablo 12.** Eğik düzlem ve Drummond ve Moore kriterlerinin 30. gün değerleri

	Sham (n=6)	Travma (n=6)	İso-tretionin 7,5 mg/kg/gün (n=6)	İso-tretionin 15 mg/kg/gün (n=6)	p
<b>Eğik düzlem açısı</b>	68,5 (2) [66-69]	46 (2) [45-48]	50 (1) [50-51]	52 (1) [52-54]	<b>&lt;0,001</b>
<b>Drummond ve Moore puanı</b>	4 (0) [4-4]	0,5 (2) [0-4]	1 (0) [0-1]	1,5 (1) [1-2]	<b>0,002</b>

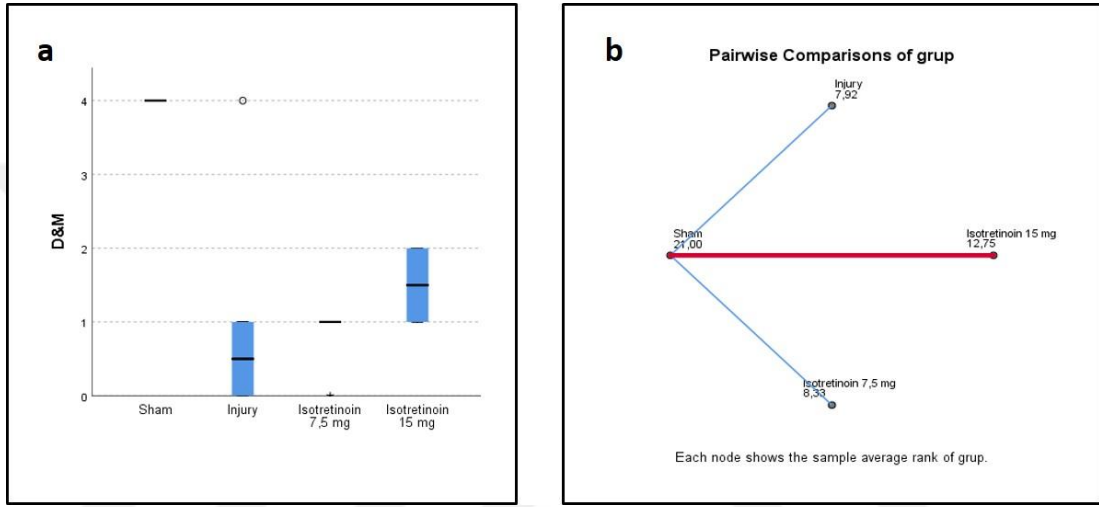
Veriler ortanca (ÇAG, çeyrekler arası genişlik) ve [minimum-maksimum] değerler şeklindedir.



**Şekil 9.** a) Gruplarda 28.gün eğik düzlem açısı değerleri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları

28.gün Drummond ve Moore kriterlerinin değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p<0,001) (Tablo 15) (Tablo13) (Şekil 10).

28.günde travma, isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün gruplarında Drummond ve Moore kriteri sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (sırasıyla  $p=0,001$ ;  $p=0,001$  ve  $p=0,033$ ). İso-tretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün gruplarındaki Drummond ve Moore kriteri travma grubuna benzer bulunurken (sırasıyla  $p=0,914$  ve  $p=0,211$ ), isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün grupları arasında da 28.gün Drummond ve Moore kriteri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p=0,254$ ).



Şekil 10. a) 28. gün Drummond ve Moore değerleri, b) Çoklu karşılaştırma sonuçları

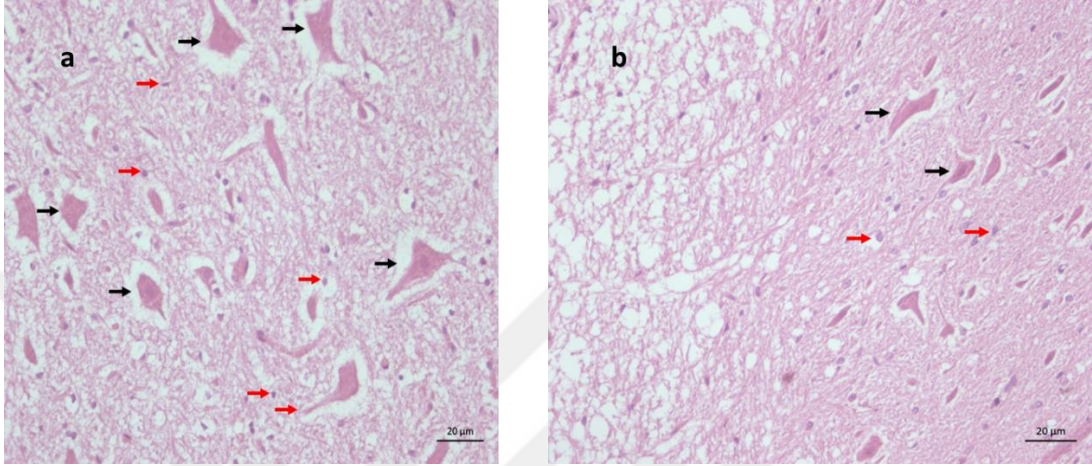
Tablo 13. Gruplarda 28.gün Drummond ve Moore kriterinin skor dağılımı

	Sham (n=6)	Travma (n=6)	İso-tretionin 7,5 mg/kg/gün (n=12)	İso-tretionin 15 mg/kg/gün (n=12)	p
<b>Drummond ve Moore puanı</b>					
<b>0</b>	0 (%0,0)	3 (%50,0)	1 (%16,7)	0 (%0,0)	<b>&lt;0,001</b>
<b>1</b>	0 (%0,0)	2 (%33,3)	5 (%83,3)	3 (%50,0)	
<b>2</b>	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	3 (%50,0)	
<b>4</b>	6 (%100)	1 (%16,7)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	

## 4.2 Histopatolojik Bulgular

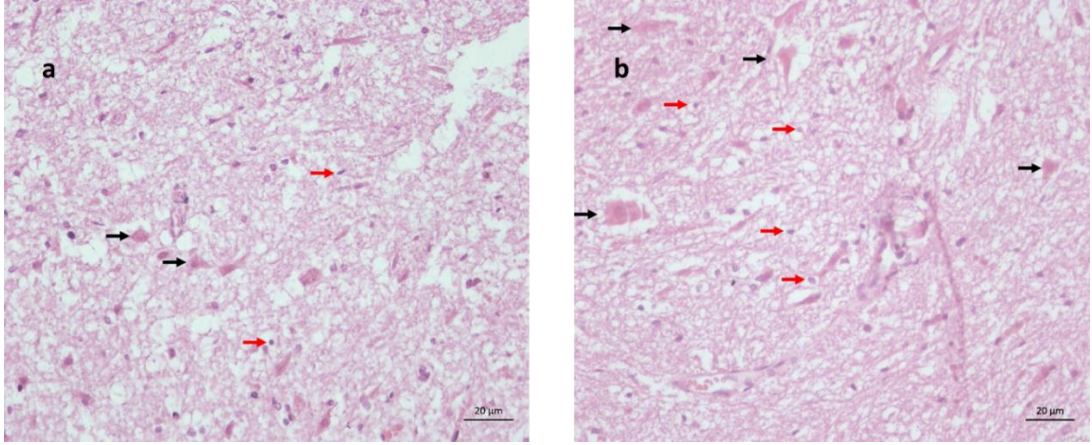
### 4.2.1 Hemotoksilen eozin boyası:

Sham grubu Hematoksilen&Eozin boyamasında motor nöron ve glial hücrelerde histopatolojik değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 11a). Travma grubundaki sıçanların hasarlanan spinal kord örneklerinde hematoksilen eozin ile boyanması ile motor nöronun sitoplazmasının pembe, nükleuslarının mor renkte boyanmış olduğu, hücre bütünlüklerinin bozulduğu görülmüştür (Şekil 11b).



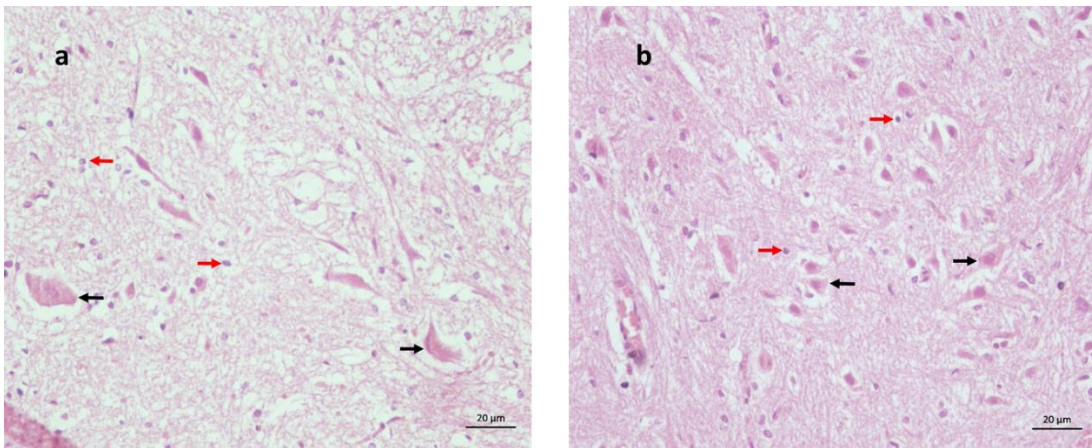
**Şekil 11. a** Sham grubu (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400). **b** Travma grubu (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400).

Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen grubun Hematoksilen&Eozin incelemesinde motor nöronların sitoplazmik hacimlerinin azaldığı mor renkte gözlenmesi gereken nükleuslarının seçilemediği ve hücre uzantıları arasında ödemli alanlar tespit edilmiştir. Glial hücrelerde ise sham ve travma grubuna kıyasla histopatolojik bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 12a). Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Hematoksilen&Eozin ile incelemesinde motor nöronların sitoplazmik hacimlerinin azaldığı ve bazı nöronların sitoplazmik sınırlarının seçilemediği gözlenmiştir. Glial hücrelerde ise sham ve travma grubuna kıyasla histopatolojik bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 12b).



**Şekil 12.a** Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün (siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400). **b** Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün (siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400).

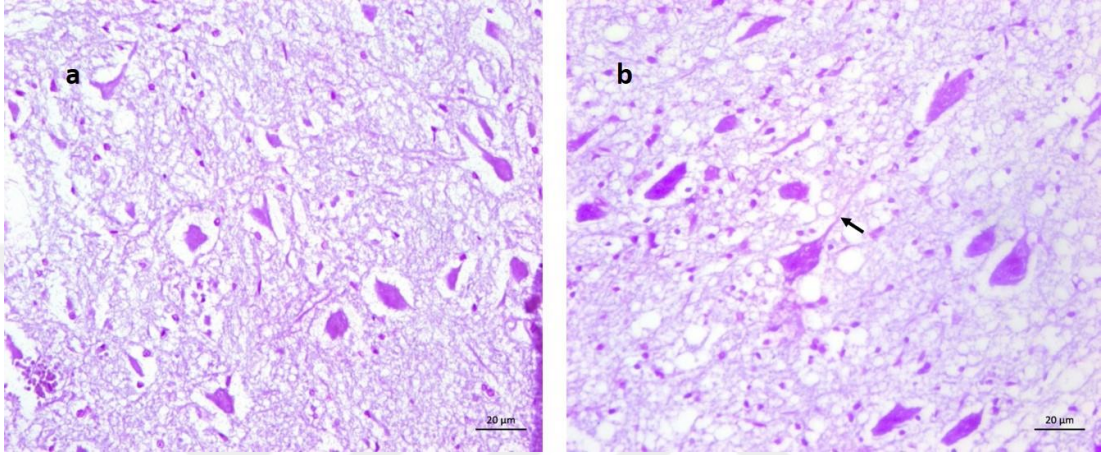
Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün kurban edilen çalışma grubunun Hematoksilin&Eozin ile incelemesinde motor nöronların sitoplazmik sınırlarının, mor renkte nükleuslarının seçilebildiği ve hücre uzantıları arasında ödemin gözlenmediği saptanmıştır. Glial hücrelerde ise sham ve travma grubuna kıyasla histopatolojik bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 13a). 28. gün kurban edilen çalışma grubunda motor nöronların sitoplazmik sınırlarının ve nükleuslarının sham grubuna benzer şekilde seçilebildiği görülmüştür. Glial hücrelerde ise sham kıyasla histopatolojik bulguları benzer olduğu saptanmıştır (Şekil 13b).



**Şekil 13. a** Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün (siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400). **b** Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. gün (siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (H&Ex400).

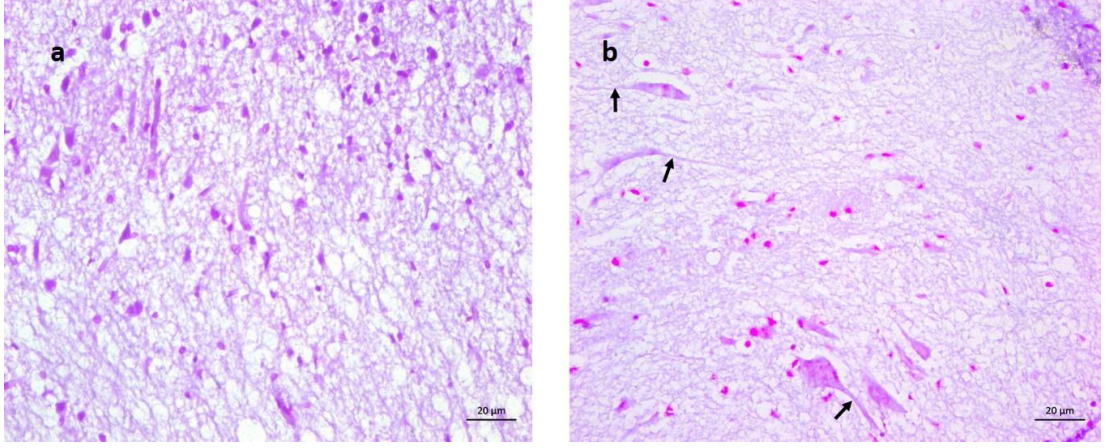
#### 4.2.2 Luxol fast boyası

Sham grubu Luxol fast ile boyanmasında motor nöron ve glial hücrelerde histopatolojik değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 14a). Travma grubunda Luxol Fast boyanmasında motor nörona ait dentritik uzantılar izlenmekte olduğu görülmüştür (Şekil 14b).



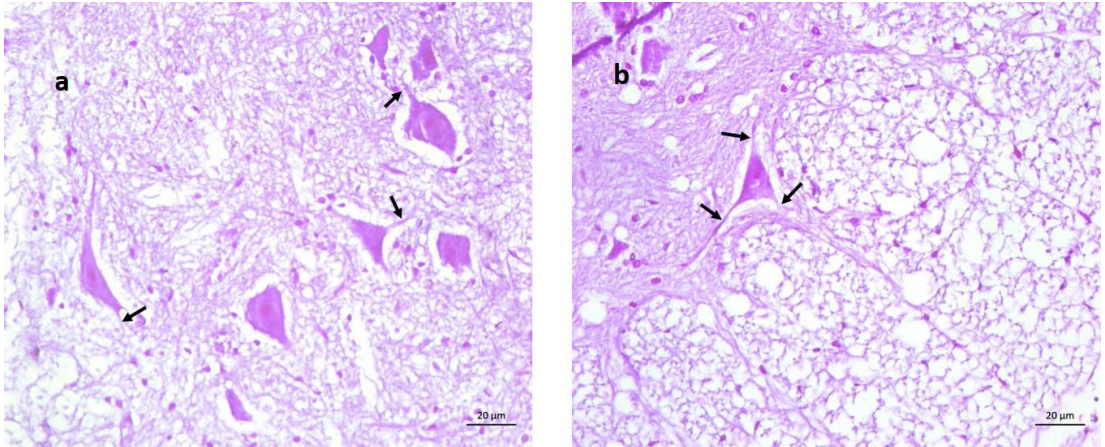
**Şekil 14. a.** Sham grubu; mavi renkte motor nöron uzantıları (Luxol Fasx400). **b.** Travma grubu (Motor nörona ait dentritik uzantı siyak ok) (Luxol Fasx400).

Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Luxol Fast ile boyanmasında motor nöronların hücre gövdelerinin hacminin azaldığı ve uzantıların çok iyi seçilemediği görülmüştür (Şekil 15 a). Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Luxol Fast ile boyanmasında motor nöronların hacimlerinin sham grubuna yakın ve hücre uzantılarının seçilebildiği görülmüştür (Şekil 15b).



**Şekil 15. a.** Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün (Luxol Fasx400). **b.** Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. Gün (Dentritik uzantı siyak ok) (Luxol Fasx400).

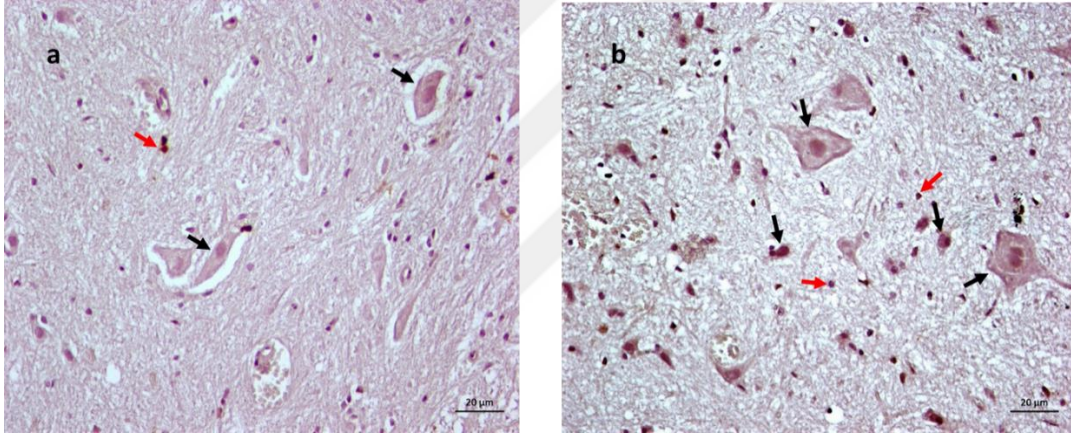
Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Luxol Fast boyası ile incelemesinde motor nöronların sitoplazmik hacimlerinin ve hücre uzantılarının sham grubuna benzer olduğu görüldü (Şekil 16a). Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Luxol Fast boyası ile incelemesinde motor nöronların sitoplazmik hacimlerinin ve hücre uzantılarının sham grubu ile aynı olduğu saptandı (Şekil 16b).



**Şekil 16. a.** Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün (Luxol Fasx400). **b.** Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. Gün (Dentritik uzantı siyak ok) (Luxol Fasx400).

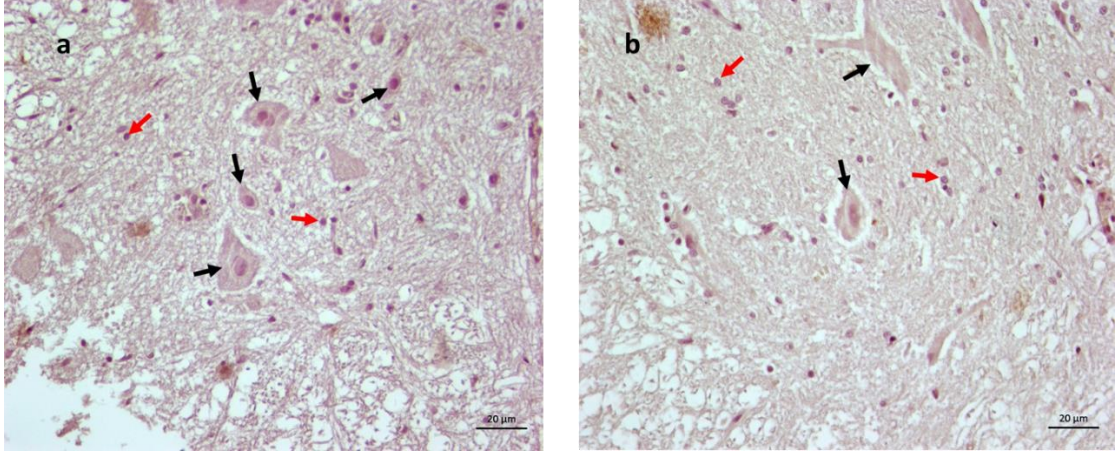
### 4.2.3 Cleaved caspase 3 immunohistokimyasal boyama

Sham grubunun Cleaved Caspase 3 immunohistokimyasal boyamasında motor nöronlarda immunohistokimyasal reaksiyon gözlenmemiştir. Sadece glial hücrede reaksiyon gözlenmiştir ve bu da fizyolojik bir süreç olarak yorumlanmıştır (Şekil 17a). Travma grubunun Cleaved Caspase 3 immunohistokimyasal boyamasında motor nöronlarda Cleaved Caspase 3 ekspresyonunun sham grubuna kıyasla birgin derecede artmış olduğu, bazı motor nöronlarda belirgin şekilde ekspresyon paterni olan kahverengi rengin çok yoğun olduğu gözlenmiştir. Glial hücrelerde de sham grubuna kıyasla daha fazla reaksiyon gözlenmiştir (Şekil 17b).



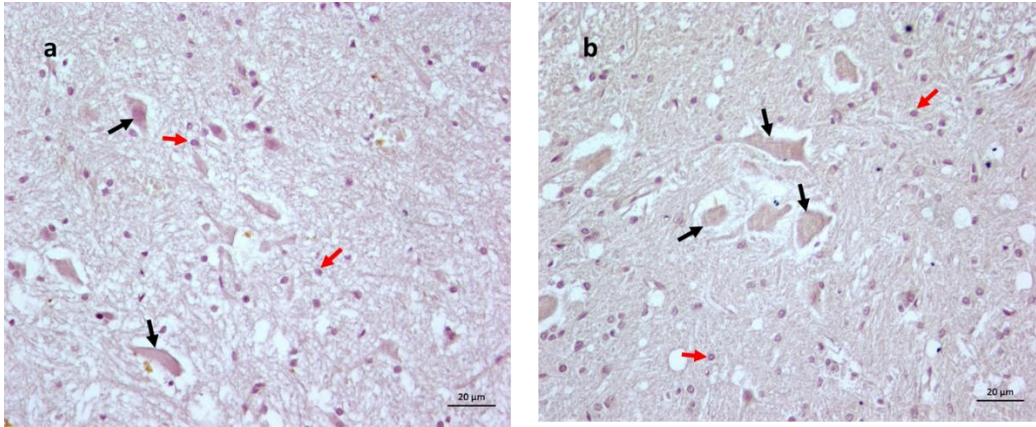
**Şekil 17. a.** Sham grubu (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved Caspase 3x400). **b.** Travma grubu (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved Caspase 3x400).

Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Cleaved Caspase 3 ile immunohistokimyasal boyamasında motor nöronlarda ve glial hücrelerde Cleaved Caspase 3 ekspresyonu sham grubuna kıyasla artarken travma grubuna kıyasla azalmış olduğu saptanmıştır (Şekil 18a). Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Cleaved Caspase 3 ile immunohistokimyasal boyamasında motor nöronlar glial hücrelerde Cleaved Caspase 3 ekspresyonu sham grubu ile benzer iken, travma grubuna kıyasla azalmış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 18b).



**Şekil 18. a.** Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved Caspase 3x400). **b.** Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved Caspase 3x400).

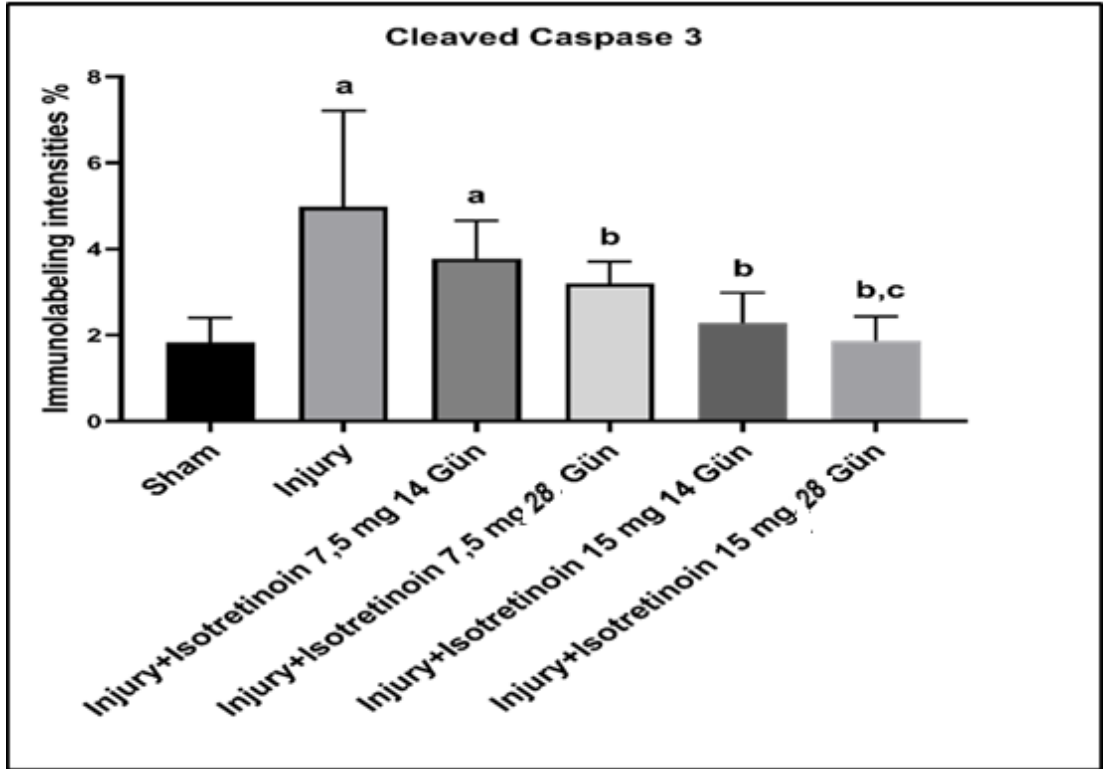
Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Cleaved Caspase 3 ile immunohistokimyasal boyamasında motor nöronların ve glial hücrelerin Cleaved Caspase 3 ekspresyonunun sham grubu ile benzer olduğu, ancak travma grubuna kıyasla azalmış olduğu saptanmıştır (Şekil 19a). Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Cleaved Caspase 3 ile immunohistokimyasal boyamasında motor nöronlar ve glial hücrelerde Cleaved Caspase 3 ekspresyonunun sham grubu ile aynı olduğu görülmüştür (Şekil 19b).



**Şekil 19. a.** Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved Caspase 3x400). **b.** Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. gün (Siyah ok motor nöron, kırmızı ok glial hücre) (Cleaved Caspase 3x400).

#### 4.2.3.1 Cleaved Caspase 3 Antikor Sonuçları

İmmünohistokimya sonuçlarına göre travma ve travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14 gün gruplarında Cleaved Caspase 3 ekspresyonu sham grubuna göre istatistiksel anlamlı şekilde artmıştır ( $p<0,05$ ). Travma +isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28 gün, travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14 gün ve travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28 gün gruplarında Cleaved Caspase 3 ekspresyonu travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ( $p<0,05$ ). Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28 gün, travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14 gün ve travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28 gün gruplarında Cleaved Caspase 3 ekspresyonu sham grubuyla aynıydı ( $p>0,05$ ). Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14 gün grubuyla travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28 gün ve travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14 gün grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ) (Şekil 20).



Şekil 20. Cleaved caspase 3 Antikorumun ekspresyonunun gösterilmesi

**a**; Sham grubuna göre anlamlılığı, **b**; Travma grubuna göre anlamlılığı, **c**; Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün'e göre anlamlılığı göstermektedir.

#### 4. TARTIŞMA

AOY; hasta ve yakınlarını psikolojik, sosyoekonomik kayba uğratan, iş gücü kaybı yaratan, hayatta kalanların yarısından fazlasının normal yaşamlarına dönemediği, ciddi fonksiyon kayıpları oluşturan önemli bir halk sağlığı sorunudur.

Travmaya bağlı omurilik, vertebralar, ligamentler ve diğer koruyucu elemanların hepsi birlikte hasarlanabilir. Omuriliğe darbe olduğunda nöronlarda oluşan hasar birincil hasar olarak adlandırılmaktadır. Oluşan fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon ve penetran yaralanmalar, nöral elemanlarda veya omurilik damarlarında gerilme ya da yırtılmaya neden olur. Omuriliğe uygulanan direk bası varlığında cerrahi olarak omurilik üzerindeki baskının dekompressif yöntemlerle kaldırılması önerilmektedir Ancak travma sonucunda oluşan doku bütünlüğünün bozulması, aksonların haraplanması, damarlarının yaralanması, ödem ve hücre membranının parçalanması gibi birincil hasar bulgularının düzeltilmesi halen tam olarak mümkün değildir. Birincil hasarın tetiklediği birçok mekanizmayla oluşan nörolojik hasar ise ikincil hasar olarak tarif edilmektedir. Nörolojik disfonksiyon, genellikle birincil hasardan çok ikincil hasardan kaynaklanmaktadır (14).

Travmadan sonra ortaya çıkan ikincil hasar mekanizmalarıyla doku hasarının devam ediyor olması bu sürece etki gösteren tedavi ajanlarının bulunması konusunda çok sayıda deneysel çalışmanın yapılmasını beraberinde getirmiştir (40,132,133). Çalışmamızda birincil ve ikincil hasarın oluşabilmesi için sıçan duramaterine tam kat anevrizma klibi ile kompresyon uygulandı. Bu konuda yapılan ilk çalışma Sweet ve Allen'in 1913 yılında, köpeklerde kontüzyon tipi omurilik hasarı oluşturarak yaptığı çalışmasıdır (134). Uyguladığı myelotomi ve posttravmatik hematomyelinin kaldırılmasının, nörolojik fonksiyonlarda iyileşme sağladığını göstermesi daha önce bu konu ile ilgili yapılan deneysel çalışmaların belirli kriterlere bağlanmasını sağlamış ve aynı zamanda ikincil hasar konseptinin de öncülüğünü yapmıştır.

Daha sonra yapılan çalışmalarda oluşan nöral hasarın azaltılması ve motor fonksiyonların korunması amaçlanmıştır. Birincil hasarda ortaya çıkan iskemiye

bağlı gelişen lipit peroksidasyonu ile oluşan serbest radikaller, lökotrienler, eikosanoidler, eksitatör aminoasitler, opiatlar, hücrelerin içinde ve arasındaki iyon değişiminde anormallikler ve bunlara cevap olarak oluşan inflamasyon ikincil hasar mekanizmalarını oluşturmaktadır. Ortaya çıkan perfüzyon bozukluğu sonucunda hücrelerde kaspaz-3'ü aktifleşir ve apoptoz başlamış olur (49,50). İkincil hasarlanmada inflamasyon anahtar role sahiptir. AOY gerçekleştikten hemen sonra başlar ve aylarca sürebilir. İmmün hücreler IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinleri salgılayarak inflamasyonun yayılmasına neden olur. TNF- $\alpha$ 'nın sekonder doku hasarını artırdığı belirtilen önemli sitokimlerdenidir (70). Sıçanlarda travmanın 30. dakikasında hasarlanan bölgede TNF- $\alpha$  düzeyleri arttığı ve bu artışın travmanın şiddeti ile doğru orantılı olarak değiştiği bildirilmektedir (71). Ayrıca TNF- $\alpha$ 'nın nötrofillerin endotel yüzeyine tutunmasını sağlayan E-selektin gibi molekülleri arttırarak dokudaki hasarın artmasına neden olmaktadır (75).

AOY sonucunda nötrofiller, monositler, mikroglia ve T-lenfositler inflamasyon yanıt ile hasarlanan bölgeye gelmektedir. Nötrofiller, hasarlanan bölgeye ilk gelen immün hücreler olup diğer inflamatuvar hücreleri ve glial hücreleri aktive eder, nöron hasarı ve ölümüyle sonuçlanan kaskadın sitokin, proteaz ve serbest radikallerini salgılar (55). Dolayısıyla inflamasyonun baskılanmasının oluşacak hasarın azaltılmasında etkili olacağı düşünülerek steroidler, opiot antagonistleri, kalsiyum kanal blokörleri, volüm genişleticiler, trilazad mesylate ve özellikle de antiinflamatuvar etkisinden dolayı metilprednizolon yaygın olarak kullanılmıştır (135).

Yaralanmadan sonra ortaya çıkan hasarı geriye döndürülebilir düşüncesiyle; ödem ve inflamasyonu gideren ajanlar, skar oluşumunu engelleyen ajanlar, apoptoz inhibitörleri, eksitoksin inhibitörleri, antiagreganlar, serbest radikal tutucular deneysel olarak çalışılmış ve bu ajanların omurilik yaralanmasının tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir. Ancak günümüze kadar bu konuda yoğun deneysel ve klinik çalışmalar yapılmasına karşın henüz etkisi kanıtlanmış bir molekül tariflenmemiş olup bu konuda yapılan moleküler ve hücresel düzeyde labaratuvar ve klinik çalışmalar devam etmektedir.

İsotretinoin nötrofillerin dokuya göçünü ve hareketlerini azaltarak antiinflamatuvar etki gösteren bir moleküldür. Ayrıca MMP 1, 2,13 ve pro-MMP 2 ve 9'u azaltır. Diğer etkileri; retinoik asit reseptörlerinden bağımsız bir mekanizmayla reaktif oksijen radikallerini azaltması ve doğal ve immün regulasyonu etkilemesidir. Bir çalışmada isotretinoin tedavisinin akne hastalarında TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-17 ve IFN- $\gamma$  seviyelerini belirgin olarak azalttığı ve immünregulatuvar etkilerinin olduğunu gösterilmiştir (110,112,136,137).

Çalışmamızda daha önce AOY sıçan modelinde çalışılmamış olan ve antiinflamatuvar etkisi iyi bilinen isotretinoin kullanılmıştır. İsotretinoinin olası düşük-yüksek doz etkisinin ve kısa-uzun dönem etkisinin farklı olabileceği düşünülerek farklı sıçan grupları oluşturulmuştur. İsotretinoinin piyasada bulunan kapsül formu serum fizyolojik içinde çözünemediğinden, Bergoli ve ark.'nın yaptıkları gibi isotretinoinin çözücüsü olarak çalışmamızda ayçiçek yağı kullanılmıştır (138). Sıçanlarda verilecek isotretinoin dozu belirlenirken nodülökistik akne tedavisi için kullanılan isotretinoinin standart dozuna (1 mg/kg/gün) eşdeğer olarak hesaplanmış olan 7,5 mg/kg/gün sıçan dozu temel olarak belirlenmiştir (139). Yüksek doz olarak standart dozun iki katı alınmıştır. İsotretinoinin klinik iyileşme üzerine olan etkisini, çok sayıda çalışmada kullanılmış olan deneysel omurilik yaralanmalarında takip parametreleri olarak kullanılan eğik düzlem testi, Drummond Moore kriteri ile değerlendirdik. Ayrıca hematoksilen eozin ile doku bütünlüğünü ve yapısını, luxol fast boyası ile nöronal uzantıları, Cleaved caspase 3 immunohistokimya yöntemiyle de apoptoza giden hücreleri göstermeyi amaçladık.

İsotretinoin 7,5 mg/kg/gün ve isotretinoin 15 mg/kg/gün gruplarında eğik düzlem açısı sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük iken travma grubu ile karşılaştırıldığında eğik düzlem açısı anlamlı şekilde artmıştı olduğu görüldü. Bu bulgu isotretinoinin eğik düzlemde yürümeyi arttırdığını motor muayenede iyileşme sağladığını göstermekteydi. Bu etkinin 28 günde devam ettiği ancak doz yükseldikçe fark oluşmadığını tespit ettik. Drummond ve Moore kriterlerine göre yapılan değerlendirme sonucunda travma grubu ile isotretinoinin düşük-yüksek doz ile kısa-uzun dönem etkileri açısından bir fark oluşturmadığını saptadık. Eğik düzlemde tespit etmiş olduğumuz farkı Drummond ve Moore kriterlerinde tespit

edememiş olmamızı travma uygulanmış hastalarda değerlendirmeyi doğru yapamamış olmamıza bağlamaktayız.

Hematoksilen-Eozin ile hücre bütünlüğü değerlendirildiğinde isotretinoin 7,5 mg/kg/gün uygulamasının glial hücrelerde beklenen değişikliğin oluşmadığı görülmüştür. isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün grubunun incelemesinde motor nöronların sitoplazmik hacimlerinin azaldığı ve bazı nöronların sitoplazmik sınırlarının seçilemediği gözlenmiştir. Glial hücrelerde ise sham ve travma grubuna kıyasla histopatolojik bir değişiklik gözlenmemiştir. Tedavi dozu yükseltildiğinde 14 günde motor nöronlarda ödemin azaldığı nukleusların seçilebilir olduğu, glial hücrelerde bir değişiklik gözlenmez iken süre de uzadığında motor nöronların sitoplazmik sınırlarının ve nukleuslarının sham grubuna benzer şekilde seçilebildiği görülmüştür. Glial hücrelerin histopatolojik bulgularının ise Sham grubu ile benzer olduğu saptanmıştır. Bu bulgular isotretinoinin dozu ve uygulanan gün sayısı arttıkça nekrozu önemli oranda azaldığını, histopatolojik olarak fark yaratacak düzeyde iyileşme sağladığını göstermektedir.

Luxol Fast boyası ile yapılan incelemede 7,5 mg/kg/gün 14. günde motor nöronların hücre gövdelerinin hacminin azaldığı ve uzantıların çok iyi seçilemediği görülmüşken aynı dozda süre 28 güne çıktığında motor nöronların hacimlerinin sham grubuna yakın ve hücre uzantılarının seçilebildiği görülmüştür. Doz 15 mg/kg/gün olduğunda iyilik halinin 14. gün boyamalarında ortaya çıktığı, tedavi süresi 28 güne çıkarıldığında ise bulguların sham grubu ile aynı olduğu görülmüştür.

Apopitoza giden hücreleri göstermeyi amaçladığımız Cleaved Caspase 3 immunohistokimyasal boyamasıda 7,5 mg/kg/gün 14. gün kurban edilen çalışma grubunun motor nöronlarda ve glial hücrelerde travma grubuna kıyasla azalmış olduğu saptanmıştır. Süre uzadığında boyanmanın daha da azalmış olduğu tespit edilmiştir. Doz yükseltildiğinde motor nöronların ve glial hücrelerin Cleaved Caspase 3 ekspresyonunun sham grubu ile benzer olduğu, ancak travma grubuna kıyasla azalmış olduğu saptanmıştır. Tedavi süresi 28 gün olduğunda Cleaved Caspase 3 ekspresyonunun sham grubu ile aynı olmaya devam ettiği, etkinin sürdürüldüğü görülmüştür.

Bu sonuçlar göstermektedir ki AOY'da isotretinoin travmayla ortaya çıkan birincil hasarın yarattığı ödem, iskemi, membran hasarı gibi bulguları düzeltmektedir. Ayrıca ikincil hasarda çok önemli bir basamak olan apoptozun azaldığı da Cleaved Caspase 3 boyaması ile gösterilmiştir. Bu etkinin isotretinoin dozu ve kullanım süresi arttıkça artıyor olması bu etkileri isotretinoin ile ilişkisini daha iyi koymaktadır. Eğik düzlemde ortaya çıkan motor iyileşmenin isotretinoinin antiinflamatuvar, antiapoptotik ve immünregulatuvar etkilerinin bir sonucu olduğunu düşünüyoruz.



## 6- SONUÇLAR

Çalışma Düzce Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Hayvan Laboratuvarı'nda Aralık 2020-Şubat 2021 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Denek olarak 2-4 haftalık, 200-250 gr ağırlığında toplam 36 adet Sprague Dawley cinsi dişi erişkin sıçan kullanılmıştır.

- 1- Tüm deneklerin motor muayenesi 14. ve 28. günde eğik düzlem açıları ve Drummond ve Moore kriterleri ile değerlendirildi.
- 2- Eğik düzlem açılarının 14.gün değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,001$ ).
- 3- 14.günde isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün gruplarında eğik düzlem açısı sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (sırasıyla  $p<0,001$ ;  $p<0,001$  ve  $p=0,045$ ).
- 4- Isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün gruplarında, travma grubuna kıyasla eğik düzlem açısı anlamlı şekilde artmıştı (sırasıyla  $p=0,048$  ve  $p<0,001$ ).
- 5- Isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün grupları arasında ise 14.gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p=0,180$ ).
- 6- 14.gün Drummond ve Moore kriterlerinin değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p<0,001$ ).
- 7- 14.günde travma, isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün gruplarında Drummond ve Moore kriterinin puanı sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla  $p<0,001$ ;  $p<0,001$  ve  $p=0,001$ ).
- 8- Isotretionin 7,5 mg/kg/gün ve isotretionin 15 mg/kg/gün gruplarındaki Drummond ve Moore kriterinin değerleri travma grubuna benzer olarak saptandı (sırasıyla  $p=0,291$  ve  $p=0,111$ ).

- 9- İsoetreionin 7,5 mg/kg/gün ve 15 mg/kg/gün grupları arasında da 14.gün anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p=0,510).
- 10- Eğik düzlem açılarının 28.gün değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p<0,001).
- 11- 28.günde travma ve isotreionin 15 mg/kg/gün gruplarında eğik düzlem açısı sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüken (sırasıyla p<0,001 ve p=0,003), sham grubu ile isotreionin 7,5 mg/kg/gün grubu arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p=0,139).
- 12- Travma grubu ile isotreionin 7,5 mg/kg/gün grubu arasında da eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,139).
- 13- İsoetreionin 15 mg/kg/gün grubunda eğik düzlem açısı travma grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur (p=0,003).
- 14- İsoetreionin 7,5 mg/kg/gün ve isotreionin 15 mg/kg/gün grupları arasında ise 28. gün eğik düzlem açısı bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0,834).
- 15- 28.gün Drummond ve Moore kriterlerinin değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p<0,001).
- 16- 28.günde travma, isotreionin 7,5 mg/kg/gün ve isotreionin 15 mg/kg/gün gruplarında Drummond ve Moore kriteri sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (sırasıyla p=0,001; p=0,001 ve p=0,033).
- 17- İsoetreionin 7,5 mg/kg/gün ve isotreionin 15 mg/kg/gün gruplarındaki Drummond ve Moore kriteri travma grubuna benzerdi (sırasıyla p=0,914 ve p=0,211).
- 18- İsoetreionin 7,5 mg/kg/gün ve isotreionin 15 mg/kg/gün grupları arasında da 28.gün Drummond ve Moore kriteri bakımından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0,254).
- 19- Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen grubun Hematoksilen&Eozin incelemesinde motor nöronların sitoplazmik hacimlerinin azaldığı mor renkte gözlenmesi gereken nukleuslarının seçilemediği ve hücre uzantıları arasında ödemli alanlar tespit edilmiştir. Glial hücrelerde ise sham ve travma grubuna kıyasla histopatolojik bir değişiklik gözlenmemiştir.

- 20- Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Hematoksilen&Eozin ile incelemesinde motor nöronların sitoplazmik hacimlerinin azaldığı ve bazı nöronların sitoplazmik sınırlarının seçilemediği gözlenmiştir. Glial hücrelerde ise sham ve travma grubuna kıyasla histopatolojik bir değişiklik gözlenmemiştir.
- 21- Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Hematoksilen&Eozin ile incelemesinde motor nöronların sitoplazmik sınırlarının, mor renkte nukleuslarının seçilebildiği ve hücre uzantıları arasında ödemin gözlenmediği saptanmıştır. Glial hücrelerde ise sham ve travma grubuna kıyasla histopatolojik bir değişiklik gözlenmemiştir.
- 22- 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunda motor nöronların sitoplazmik sınırlarının ve nukleuslarının sham grubuna benzer şekilde seçilebildiği görülmüştür. Glial hücrelerde ise sham kıyasla histopatolojik bulguları benzer olduğu saptanmıştır.
- 23- Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Luxol Fast ile boyanmasında motor nöronların hücre gövdelerinin hacminin azaldığı ve uzantıların çok iyi seçilemediği görülmüştür.
- 24- Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Luxol Fast ile boyanmasında motor nöronların hacimlerinin sham grubuna yakın ve hücre uzantılarının seçilebildiği görülmüştür.
- 25- Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Luxol Fast boyası ile incelemesinde motor nöronların sitoplazmik hacimlerinin ve hücre uzantılarının sham grubuna benzer olduğu görüldü.
- 26- Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Luxol Fast boyası ile incelemesinde motor nöronların sitoplazmik hacimlerinin ve hücre uzantılarının sham grubu ile aynı olduğu saptandı.
- 27- Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Cleaved Caspase 3 ile immunohistokimyasal boyamasında motor nöronlarda ve glial hücrelerde Cleaved Caspase 3 ekspresyonu sham grubuna kıyasla artarken travma grubuna kıyasla azalmış olduğu saptanmıştır.
- 28- Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Cleaved Caspase 3 ile immunohistokimyasal boyamasında motor

nöronlar glial hücrelerde Cleaved Caspase 3 ekspresyonu sham grubu ile benzer iken, travma grubuna kıyasla azalmış olduğu tespit edilmiştir.

- 29- Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Cleaved Caspase 3 ile immunohistokimyasal boyamasında motor nöronların ve glial hücrelerin Cleaved Caspase 3 ekspresyonunun sham grubu ile benzer olduğu, ancak travma grubuna kıyasla azalmış olduğu saptanmıştır.
- 30- Travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28. gün sakrifiye edilen çalışma grubunun Cleaved Caspase 3 ile immunohistokimyasal boyamasında motor nöronlar ve glial hücrelerde Cleaved Caspase 3 ekspresyonunun sham grubu ile aynı olduğu görülmüştür.
- 31- İmmünohistokimya sonuçlarına göre travma ve travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14 gün gruplarında Cleaved Caspase 3 ekspresyonu sham grubuna göre istatistiksel anlamlı şekilde artmıştır ( $p<0,05$ ).
- 32- Travma +isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28 gün, travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14 gün ve travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28 gün gruplarında Cleaved Caspase 3 ekspresyonu travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ( $p<0,05$ ).
- 33- Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28 gün, travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14 gün ve travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 28 gün gruplarında Cleaved Caspase 3 ekspresyonu sham grubuyla aynıydı ( $p>0,05$ ).
- 34- Travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 14 gün grubuyla travma+isotretinoin 7,5 mg/kg/gün 28 gün ve travma+isotretinoin 15 mg/kg/gün 14 gün grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ).

**Sonuç olarak;** yaptığımız bu çalışmanın asıl amacı omurilik için tek başına tedavi geliştirmek olmamakla birlikte, tıbbi ve cerrahi tedaviye yardımcı olabilecek bir tedavi ajanını ortaya koymaktır. Çalışma sonuçları ile değerlendirildiğinde isotretinoinin AOY’da faydalı olabileceği görülmüştür. Ancak daha geniş serilerde yapılmış klinik ve laboratuvar çalışmalarıyla bulgularımızın desteklenmesi gerekmektedir. İsoetretinoinin bu çalışmalar ışığında AOY’da etkin bir tedavi seçeneği olarak yer alabileceğini düşünmekteyiz.

## 7- KAYNAKLAR

- 1- Lasfargues JE, Custis D, Morrone F, Carswell J, Nguyen T. A model for estimating spinal cord injury prevalence in the United States. *Paraplegia*. 1995;33(2):62-68.
- 2- Karamehmetođlu SS, Nas K, Karacan I, Sarac AJ, Koyuncu H, Ataođlu S, et al. Traumatic spinal cord injuries in southeast Turkey: an epidemiological study. *Spinal Cord*. 1997;35(8):531-533.
- 3- Pearse DD, Sanchez AR, Pereira FC, Andrade CM, Puzis R, Pressman Y, et al. Transplantation of Schwann cells and/or olfactory ensheathing glia into the contused spinal cord: Survival, migration, axon association, and functional recovery. *Glia*. 2007;55(9):976-1000.
- 4- Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996;2:319-370.
- 5- Demediuk P, Saunders RD, Clendenon NR, Means ED, Anderson DK, Horrocks LA. Changes in lipid metabolism in traumatized spinal cord. *Progg Brain Res* 1985;63:211-226.
- 6- Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. *Spine J*. 2004;4(4):451-464.
- 7- Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev*. 1996;76(2):319-370.
- 8- Heffner JE, Repine JE. Pulmonary strategies of antioxidant defense. *Rev Respir Dis*. 1989;140:531-554.
- 9- Griessenauer CJ, Raborn J, Foreman P, Shoja MM, Loukas M, Tubbs RS. Venous drainage of the spine and spinal cord: a comprehensive review of its history, embryology, anatomy, physiology, and pathology. *Clin Anat*. 2015;28(1):75-87.
- 10- Splittgerber R. Snell Klinik Nöroanatomi. pp. 133-143, Nobel Tıp Kitapevleri, 2011.

- 11-**Bican O, Minagar A, Pruitt AA. The spinal cord: a review of functional neuroanatomy. *Neurol Clin.* 2013;31(1):1-18.
- 12-**Gharagozloo F, Larson J, Dausmann MJ, Neville RF Jr, Gomes MN. Spinal cord protection during surgical procedures on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta: review of current techniques. *Chest.* 1996;109(3):799-809.
- 13-**Weisberg LA. *Vascular Disease of the Spinal Cord.* Ed: Rowland LP. Merrit's Textbook of Neurology, pp:271-274, Williams & Wilkins, Newyork, USA, 2000.
- 14-**Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 1991;37(5):291-302.
- 15-**Tator CH. Spine-spinal cord relationship in spinal cord trauma. *Clin Neurosurg* 1991;491:479-494.
- 16-**Zileli M, Gülmen V. Deneysel omurilik yaralanması. Eds: Zileli M, Ozer AF. Omurilik ve omurga cerrahisi pp: 951-956, İntertıp Yayınevi, İzmir, Türkiye, 2014.
- 17-**Tarlov IM. Spinal cord compression. Mechanism of paralysis and treatment. Blackwell Scientific Publications, Springfield, Illinois, USA, 1957.
- 18-**Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC, Anderson DK, Faden AI, Gruner JA, et al. MASCIS evaluation of open field locomotor scores: Effects of experience and teamwork on reliability. *Journal of Neurotrauma* 1996;13:343-359.
- 19-**Rivlin AS, Tator CH. Regional spinal cord blood flow in rats after severe cord trauma. *J Neurosurg* 1978;49:844-858.
- 20-**Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 1991;75:15-26.
- 21-**Okano H, Okada S, Nakamura M, Toyama Y. Neural stem cells and regeneration of injured spinal cord. *Kidney Int.* 2005;68(5):1927-31.
- 22-**Wang VY, Chou D, Chin C. Spine and spinal cord emergencies: Vascular and infectious causes. *Neuroimaging Clin N Am* 2010;20:639-650.

- 23-** Cheng H, Cao Y, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function. *Science* 1996;273:510-513.
- 24-** Zileli M, Dalbastı T, Övül İ. Deneysel omurilik yaralanmalarında naloxone'un etkisi- ön bildiri. *Ege Nörol. Bil. D* 1985;2:21-26.
- 25-** Oro J, Haghghi SS. Effects of altering core body temperature on somatosensory and motor evoked potentials in rats. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1992;17(5):498-503.
- 26-** Ahuja CS, Wilson JR, Nori S, Kotter MRN, Druschel C, Curt A, Fehlings MG. Traumatic spinal cord injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17018.
- 27-** Kaptanoğlu E. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi. Ed: Korfalı E. *Temel Nöroşirürji*. pp. 1623-1632, Türk Nöroşirürji Derneği, Ankara, Türkiye 2010.
- 28-** Fehlings MG, Sekhon LH, Tator C. The role and timing of decompression in acute spinal cord injury: what do we know? What should we do? *Spine (Phila Pa 1976)*. 2001;26(24 Suppl):S101-10.
- 29-** Young W. Secondary injury mechanisms in acute spinal cord injury. *J Emerg Med*. 1993;11 Suppl 1:13-22.
- 30-** 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.
- 31-** Tator CH. Experimental and clinical studies of the pathophysiology and management of acute spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*. 1996;19(4):206-14.
- 32-** Namiki J, Kojima A, Tator CH. Effect of brain-derived neurotrophic factor, nerve growth factor, and neurotrophin-3 on functional recovery and regeneration after spinal cord injury in adult rats. *J Neurotrauma*. 2000;17(12):1219-31.
- 33-** Tator CH. Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol*. 1995;5(4):407-13.
- 34-** Mautes AE, Weinzierl MR, Donovan F, Noble LJ. Vascular events after spinal cord injury: contribution to secondary pathogenesis. *Phys Ther*. 2000;80(7):673-87.

- 35-** Kiss ZHT, Tator CH. Neurogenic shock. Ed: Geller ER. Shock and Resuscitation. pp: 421-440, McGraw-Hill, New York, USA, 1993.
- 36-** Geisler FH. Neuroprotection and regeneration of the spinal cord, Eds: Menezes AH, Sonntag VKH. Principles of spinal surgery. pp:769-784. McGraw-Hill, New York, USA, 1996.
- 37-** Koyonagi I, Tator CH, Lea PJ. Silicone rubber microangiography of acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1993;32:260-268.
- 38-** Wallace MC, Tator CH, Frazee P. Relationship between posttraumatic ischemia and hemorrhage in the injured rat spinal cord as shown by colloidal carbon angiography. *Neurosurgery* 1986;18:433-439.
- 39-** Dohrmann GJ, Wagner FC, Bucy PC. The microvasculature in transitory traumatic paraplegia: An electron microscopic study in the monkey. *J Neurosurg* 1971;35:263-271.
- 40-** Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999;44:1027-1040.
- 41-** McAdoo DJ, Xu GY, Robak G, Hughes MG. Changes in amino acid concentrations over time and space around an impact injury and their diffusion through the rat spinal cord. *Exp Neurol*. 1999;159(2):538-44.
- 42-** Xu W, Chi L, Xu R, Ke Y, Luo C, Cai J, et al. Increased production of reactive oxygen species contributes to motor neuron death in a compression mouse model of spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2005;43(4):204-13.
- 43-** Li GL, Farooque M, Holtz A, Olsson Y. Apoptosis of oligodendrocytes occurs for long distances away from the primary injury after compression trauma to rat spinal cord. *Acta Neuropathol*. 1999;98(5):473-80.
- 44-** Faden AI, Chan PH, Longar S. Alterations in lipid metabolism. *J Neurochem*. 1987;48:1809-1816.
- 45-** Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, Dumont AS. Acute spinal cord injury, part II: contemporary pharmacotherapy. *Clin Neuropharmacol*. 2001;24(5):265-79.
- 46-** Williamson DR, Frenette AJ, Burry L, Perreault MM, Charbonney E, Lamontagne F, et al. Pharmacological interventions for agitation in patients

- with traumatic brain injury: protocol for a systematic review and meta-analysis. *Syst Rev*. 2016;5(1):193.
- 47-** Friedlander RM. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *N Engl J Med*. 2003 Apr 3;348(14):1365-75.
- 48-** Roseborough G, Lin R, Gao D, McHale A, Chen L, Williams GM, et al. DNA damage and repair in human spinal cord following ischemia–reperfusion injury. *Journal of Cardiothoracic-Renal Research*. 2006;1(2):141-5.
- 49-** Adams JM, Cory S. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. *Trends Biochem Sci*. 2001;26(1):61-6.
- 50-** Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cell Signal*. 2003;15(11):983-92.
- 51-** Büki A, Povlishock J. All roads lead to disconnection?–Traumatic axonal injury revisited. *Acta neurochirurgica*. 2006;148(2):181-94.
- 52-** Lewén A, Fujimura M, Sugawara T, Matz P, Copin JC, Chan PH. Oxidative stress-dependent release of mitochondrial cytochrome c after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001;21(8):914-20.
- 53-** Schuler M, Green D. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochemical Society Transactions*. 2001;29(6):684-7.
- 54-** Rachmany L, Tweedie D, Rubovitch V, Yu Q-S, Li Y, Wang J-Y, et al. Cognitive impairments accompanying rodent mild traumatic brain injury involve p53-dependent neuronal cell death and are ameliorated by the tetrahydrobenzothiazole PFT- $\alpha$ . *PloS one*. 2013;8(11):e79837.
- 55-** Rossignol S, Schwab M, Schwartz M, Fehlings MG. Spinal cord injury: time to move? *J Neurosci*. 2007;27(44):11782-92.
- 56-** Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Murakami K, Kushimoto S, Johno M, et al. Role of neutrophils in spinal cord injury in the rat. *Neuroscience*. 1997;79(4):1177-82.
- 57-** Schnell L, Fearn S, Klassen H, Schwab ME, Perry VH. Acute inflammatory responses to mechanical lesions in the CNS: differences between brain and spinal cord. *Eur J Neurosci*. 1999;11(10):3648-58.

- 58-** Anderson AJ. Mechanisms and pathways of inflammatory responses in CNS trauma: spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.* 2002;25(2):70-9; discussion 80.
- 59-** Popovich PG, Jones TB. Manipulating neuroinflammatory reactions in the injured spinal cord: back to basics. *Trends Pharmacol Sci.* 2003;24(1):13-7.
- 60-** Schwartz M, Kipnis J. Protective autoimmunity: regulation and prospects for vaccination after brain and spinal cord injuries. *Trends Mol Med.* 2001;7(6):252-8.
- 61-** Hammarberg H, Lidman O, Lundberg C, Eltayeb SY, Gielen AW, Muhallab S, et al. Neuroprotection by encephalomyelitis: rescue of mechanically injured neurons and neurotrophin production by CNS-infiltrating T and natural killer cells. *J Neurosci.* 2000;20(14):5283-91.
- 62-** Hendrix S, Nitsch R. The role of T helper cells in neuroprotection and regeneration. *J Neuroimmunol.* 2007;184(1-2):100-12.
- 63-** Ditor DS, Bao F, Chen Y, Dekaban GA, Weaver LC. A therapeutic time window for anti-CD 11d monoclonal antibody treatment yielding reduced secondary tissue damage and enhanced behavioral recovery following severe spinal cord injury. *J Neurosurg Spine.* 2006;5(4):343-52.
- 64-** Casha S, Yu WR, Fehlings MG. Oligodendroglial apoptosis occurs along degenerating axons and is associated with FAS and p75 expression following spinal cord injury in the rat. *Neuroscience.* 2001;103(1):203-18.
- 65-** Grossman SD, Rosenberg LJ, Wrathall JR. Temporal-spatial pattern of acute neuronal and glial loss after spinal cord contusion. *Exp Neurol.* 2001;168(2):273-82.
- 66-** Díaz-Ruiz A, Ibarra A, Pérez-Severiano F, Guízar-Sahagún G, Grijalva I, Ríos C. Constitutive and inducible nitric oxide synthase activities after spinal cord contusion in rats. *Neurosci Lett.* 2002;319(3):129-32.
- 67-** Blantz RC, Satriano J, Gabbai F, Kelly C. Biological effects of arginine metabolites. *Acta Physiol Scand* 2000;168:21-25.
- 68-** Chabrier PE, Demerlé-Pallardy C, Auguet M. Nitric oxide synthases: targets for therapeutic strategies in neurological diseases. *Cell Mol Life Sci.* 1999;55(8-9):1029-35.

- 69-** Wu W, Liuzzi FJ, Schinco FP, Depto AS, Li Y, Mong JA. Neuronal nitric oxide synthase is induced in spinal neurons by traumatic injury. *Neuroscience* 1994;61(4):719-726.
- 70-** Paterniti I, Genovese T, Crisafulli C, Mazzon E, Di Paola R, Galuppo M, Bramanti P, Cuzzocrea S. Treatment with green tea extract attenuates secondary inflammatory response in an experimental model of spinal cord trauma. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2009;380(2):179-92.
- 71-** 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.
- 72-** Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Murakami K, Harada N, Johno M, et al. Activated protein C reduces the severity of compression-induced spinal cord injury in rats by inhibiting activation of leukocytes. *J Neurosci.* 1998;18(4):1393-98.
- 73-** Chi L, Yu J, Zhu H, Li X, Zhu S, Li Z, et al. Dual neuronal response to tumor necrosis factor-alpha following spinal cord injury. *Neural Regeneration Research.* 2010;5:917-26.
- 74-** Figiel I. Pro-inflammatory cytokine TNF-alpha as a neuroprotective agent in the brain. *Acta neurobiologiae experimentalis.* 2008;68(4):526-34.
- 75-** Genovese T, Mazzon E, Muià C, Patel NS, Threadgill MD, Bramanti P, De Sarro A, Thiemermann C, Cuzzocrea S. Inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase modulate signal transduction pathways and secondary damage in experimental spinal cord trauma. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005;312(2):449-57.
- 76-** Oz B. Medulla spinalis yaralanmalarında patoloji. In Hancı M, Medulla spinalis yaralanmaları pp: 137-142, 2000.
- 77-** Tator CH. Pathophysiology and pathology of spinal cord injury. Eds: Wilkins RH, Rengachary SS. *Neurosurgery.* pp: 2847-59. Williams & Wilkins, Baltimore, USA, 1996.
- 78-** Kakulas BA, Taylor JR. Pathology of injuries of vertebral column and spinal cord. Ed: Frankel HL. *Handbook of Clinical Neurology.* pp: 21-51. Elsevier, Amsterdam, Holland, 1992.

- 79-** Kakulas BA. Pathology of spinal injuries. Cent Nerv Syst Trauma 1984;1(2):117-129.
- 80-** West N, Collins GH. Cellular changes during repair of a cryogenic spinal cord injury in rat. J Neuropathol 1989;48:94-108.
- 81-** Ducker TB, Kindt GW, Kepme LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. J Neurosurg. 1971;35:700-708.
- 82-** Fried L, Goodkin R. Microangiographic observations of the experimentally traumatized spinal cord. J.Nerosurg. 1971;35:709-714.
- 83-** Anderson T. Spinal cord contusion injury: experimental dissociation of hemorrhagic necrosis and subacute loss of axonal conduction. J.Neurosurg. 1985;62:115-119.
- 84-** Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaf W. Animal models used in spinal cord regeneration research. Spine 202002;27:1504-1510.
- 85-** O'Brien M, Felmlly WT, Haheer TR. Thorasic and lumbar fractures: Diagnosis and management. The text book of spinal surgery. pp: 871-87. Lipincott, Philadelphia, USA, 1991.
- 86-** Vaccaro AR, Klein GR. Cervical spinal trauma: Upper and lower. Principles an practice of spine surgery. pp: 441-478, Mosby, Pensylvania, USA, 2003.
- 87-** Torun F, Attar A. Omurilik yaralanması ve değerdendirilmesi, Ed: Aksoy K, Temel Nöroşirürji, pp:1144-1162. Türk Nöroşirürji Derneği yayınları, Ankara, 2005.
- 88-** Wagner FC Jr. Injuries to the cervical spine and spinal cord, Youmans neurological surgery. pp: 2378-2391. W.B Sounders Co. Philadelphia, USA, 1990.
- 89-** Zileli M. Omurilik yaralanmasında epidemiyoloji ve prognoz. Ed: Zileli M, Özer AF, Omurilik ve Omurga Cerrahisi pp: 885-892. Meta Basım, İzmir, Türkiye, 2002.
- 90-** Pang D. Spinal cord injury without radiographic abnormality in children, 2 decades later. Neurosurgery 2004;55(6) 1325-42.
- 91-** Rivlin AS, Tator CH. Effect of vasodilators and myelotomy on recovery after acute spinal cord injury in rats. J Neurosurg 1979;50:349-352.

- 92-** Reier PJ, Stokes BT, Thompson FJ, Anderson DK. Fetal cell grafts into resection and contusion/compression injuries of the rat and cat spinal cord. *Exp Neurol.* 1992;115(1):177-88.
- 93-** Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR. Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord injury randomized controlled trial. *J. Neurosurg* 1998; 89(5):699-706.
- 94-** Greene KA, Marciano FF, Sonntag VK. Pharmacological management of spinal cord injury. *J Spinal Dis* 1996:355-366.
- 95-** Agrawal SK, Nashmi R. Role of L- and T-type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience.* 2000;99:179-188.
- 96-** 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;26(4):283-287.
- 97-** Fu ES, Tummala RP. Neuroprotection in brain and spinal cord trauma. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2005;18(2):181-187.
- 98-** Gorio A, Gokmen N, Erbayraktar S, Yilmaz O, Madaschi L, Cichetti C, et al. Recombinant human erythropoietin counteracts secondary injury and markedly enhances neurological recovery from experimental spinal cord trauma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(14):9450-9455.
- 99-** Bethea JR, Dietrich WD. Targeting the host inflammatory response in traumatic spinal cord injury. *Curr Opin Neurol.* 2002;15(3):355-360.
- 100-** Hayta E, Elden H. Acute spinal cord injury: A review of pathophysiology and potential of non-steroidal anti-inflammatory drugs for pharmacological intervention. *J Chem Neuroanat.* 2018;87:25-31.
- 101-** Tibbles PM, Edelsberg JS. Hyperbaric oxygen therapy. *N Engl J Med.* 1996;334(25):1642-1648.
- 102-** Karadağ AS. İzotretinoin. Ed: Sarıcaoğlu H, Ünal İ, Karaman G, Kesikoğlu AF, Karadağ AS, Aktürk AŞ, Kalkan G. Akne ve Rozase Tanı ve Tedavi. pp. 242-258, Galenos Yayınevi, İstanbul, Türkiye, 2018.

- 103-** Bagatin E, Costa CS. The use of isotretinoin for acne - an update on optimal dosing, surveillance, and adverse effects. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2020;13(8):885-897.
- 104-** Nast A, Dréno B, Bettoli V, Bukvic Mokos Z, Degitz K, Dressler C, et al. European evidence-based (S3) guideline for the treatment of acne - update 2016 - short version. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016;30:1261-68.
- 105-** Thielen AM, Saurat JH. Retinoids. Ed: Bologna JL, Jorizzo JL, Schaffer JV. *Dermatology*, 3rd ed pp. 2089-2103, New York, Mosby; 2012.
- 106-** Brelsford M, Beute TC. Preventing and managing the side effects of isotretinoin. *Semin Cutan Med Surg* 2008;27:197-206.
- 107-** Karadağ AS, Kalkan G, Lin YT, Chen W. Update of oral isotretinoin in acne patients. In: Khanna N, Kubba R, eds. *World Clinics Dermatology: Acne*. New Delhi, India: Jaypee Brothers; 2013;169-200.
- 108-** Melnik BC. Apoptosis may explain the pharmacological mode of action and adverse effects of isotretinoin, including teratogenicity. *Acta Derm Venereol* 2017;97:173-81.
- 109-** Melnik BC. The role of transcription factor FoxO1 in the pathogenesis of acne vulgaris and the mode of isotretinoin action. *G Ital Dermatol Venereol* 2010;145:559-71.
- 110-** Karadag AS, Ertugrul DT, Bilgili SG, Takci Z, Akin KO, Calka O. Immunoregulatory effects of isotretinoin in patients with acne. *Br J Dermatol* 2012;167:433-5.
- 111-** Mollan SP, Woodcock M, Siddiqi R, Huntbach J, Good P, Scott RA. Does use of isotretinoin rule out a career in flying? *Br J Ophthalmol.* 2006;90(8):957-9.
- 112-** Papakonstantinou E, Aletras AJ, Glass E, Tsogas P, Dionyssopoulos A, Adjaye J, et al. Matrix metalloproteinases of epithelial origin in facial sebum of patients with acne and their regulation by isotretinoin. *J Invest Dermatol* 2005;125:673-84.
- 113-** Karadag AS, Ertugrul DT, Tural E, Akin KO. Isotretinoin influences pituitary hormone levels in acne patients. *Acta Derm Venereol* 2011;91:31-4.

- 114-** Zaenglein AL, Pathy AL, Schlosser BJ, Alikhan A, Baldwin HE, Berson DS, et al. Guidelines of care for the management of acne vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 2016;74:945-73.
- 115-** Karadağ AS, Çalka Ö, Akdeniz N. Evaluation of side effects of isotretinoin in 150 patients with acne vulgaris. *Turkderm* 2011;45:37-42.
- 116-** Sundström A, Alfredsson L, Sjölin-Forsberg G, Gerdén B, Bergman U, Jokinen J. Association of suicide attempts with acne and treatment with isotretinoin: retrospective Swedish cohort study. *BMJ*. 2010;341:c5812.
- 117-** Jick SS, Kremers HM, Vasilakis-Scaramozza C. Isotretinoin use and risk of depression, psychotic symptoms, suicide, and attempted suicide. *Arch Dermatol* 2001;137:1102-3.
- 118-** Yazici K, Baz K, Yazici AE, Köktürk A, Tot S, Demirseren D, et al. Disease-specific quality of life is associated with anxiety and depression in patients with acne. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004;18:435-9.
- 119-** Bremner JD, Shearer KD, McCaffery PJ. Retinoic acid and affective disorders: the evidence for an association. *J Clin Psychiatry* 2012;73:37-50.
- 120-** Neudorfer M, Goldshtein I, Shamai-Lubovitz O, Chodick G, Dadon Y, Shalev V. Ocular adverse effects of systemic treatment with isotretinoin. *Arch Dermatol* 2012;148:803-808.
- 121-** Fraunfelder FT, Fraunfelder FW, Edwards R. Ocular side effects possibly associated with isotretinoin usage. *Am J Ophthalmol* 2001;132:299-305.
- 122-** Lee YH, Scharnitz TP, Muscat J, et al. Laboratory Monitoring During Isotretinoin Therapy for Acne: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Dermatol* 2016;152:35-44.
- 123-** Webster GF, Webster TG, Grimes LR. Laboratory tests in patients treated with isotretinoin: occurrence of liver and muscle abnormalities and failure of AST and ALT to predict liver abnormality. *Dermatol Online J* 2017;23.
- 124-** Bremner JD, McCaffery P. The neurobiology of retinoic acid in affective disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008;32(2):315-31.

- 125-** Bremner JD, Fani N, Ashraf A, Votaw JR, Brummer ME, Cummins T, et al. Functional brain imaging alterations in acne patients treated with isotretinoin. *Am J Psychiatry* 2005;162:983-91.
- 126-** Kontaxakis VP, Skourides D, Ferentinos P, Havaki-Kontaxaki BJ, Papadimitriou GN. Isotretinoin and psychopathology: a review. *Ann Gen Psychiatry* 2009;8:2.
- 127-** Zachariae H. Delayed wound healing and keloid formation following Argon laser or dermabrasion during isotretinoin treatment. *Br J Dermatol* 1988;118:703-6.
- 128-** Rubenstein R, Roenigk HH Jr, Stegman SJ, Hanke CW. Atypical keloids after dermabrasion of patients taking isotretinoin. *J Am Acad Dermatol* 1986;15:280-5.
- 129-** Spring LK, Krakowski AC, Alam M, Bhatia A, Brauer J, Cohen J, et al. Isotretinoin and timing of procedural interventions: a systematic review with consensus recommendations. *JAMA Dermatol* 2017;153:802-9.
- 130-** Mahadevappa OH, Mysore V, Viswanath V, Thurakkal S, Majid I, Talwar S, et al. Surgical outcome in patients taking concomitant or recent intake of oral isotretinoin: a study-ISO-AIMS Study. *J Cutan Aesthet Surg* 2016; 9:106-14.
- 131-** Braugler JM. Methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *J Neurosurgery*. 1987;67:102-105.
- 132-** 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;36(10):683-90.
- 133-** Lu J, Ashwell K, Ken WS, Waite P. Advances in spinal cord injury: Role of Apoptosis. *Spine* 2000;25:1859-1866.
- 134-** Sweet JE, Allen AR. II. The Effect of the Removal of the Hypophysis in the Dog. *Ann Surg*. 1913;57(4):485-91.
- 135-** 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.

- 136-** Thielitz A, Krautheim A, Gollnick H. Update in retinoid therapy of acne. *Dermatol Ther* 2006;19(5):272-279.
- 137-** Zouboulis CC. Isotretinoin revisited: pluripotent effects on human sebaceous gland cells. *J Invest Dermatol* 2006;126(10):2154-6.
- 138-** Bergoli RD, Chagas Junior OL, de Souza CE, Vogt BF, de Oliveira HT, Etges A, Silva DN. Isotretinoin effect on alveolar repair after exodontia-a study in rats. *Oral Maxillofac Surg* 2011;15(2):85-92.
- 139-** Goldsmith LA, Bologna JL, Callen JP, Chen SC, Feldman SR, Lim HW. American Academy of Dermatology Consensus Conference on the safe and optimal use of isotretinoin: summary and recommendations. *J Am Acad Dermatol.* 2004;50:900-6.

## **Ek 1. Etik kurul onayı**



DÜZCE ÜNİVERSİTESİ / DÜZCE UNIVERSITY

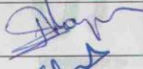
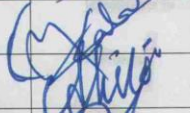
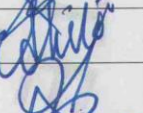
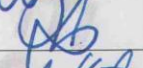
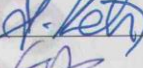
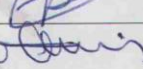
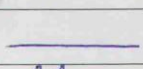
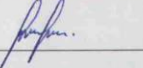
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI  
LOCAL ETHICS COMMITTEE PRESIDENCY ON ANIMAL TESTINGS

ETİK KURUL BAŞVURU KARARI / ETHICS COMMITTEE'S DECISION ON APPLICATION

Dr. Öğretim Üyesi Ömer POLAT tarafından kurulumuza sunulan "Sıçanlarda deneysel omurilik hasarında isotretinoinin nöral dokudaki iyileşme üzerindeki etkileri" isimli araştırma başvuru projesi etik yönden değerlendirilmiş olup; yönergemiz ilkelerine göre proje etiği açısından "UYGUN OLDUĞUNA" ~~oy birliği / oy çokluğu~~ ile karar verilmiştir.

The research project entitled "Effects of isotretinoin on neural tissue recovery in experimental spinal cord injury in rats", submitted to our committee by Asst.Prof.Dr. Ömer POLAT has been evaluated. According to the principles stated in our directive and the related ethical standards and codes, it has been decided ~~unanimously / by majority vote~~ that the research project is appropriate to be conducted.

Toplantı Tarihi / Meeting Date: 16.11.2020  
Karar No / Decisions No: 2020/11/03

Unvan / Title, Adı / Name, Soyadı / Surname, Görevi / Position	Karar / Decision	İmza / Signature
Prof.Dr. Ertuğrul KAYA Başkan / Chairman	Uygun / Appropriate	
Asst.Prof.Dr. Murat KABAKLIOĞLU Başkan Vekili / Deputy Chairman	Uygun / Appropriate	
Ali GÖK Veteriner Hekim / Veterinary Physician	Uygun / Appropriate	
Prof.Dr. Şerif DEMİR Üye / Member	Uygun / Appropriate	
Assoc.Prof.Dr. Akif KETEN Üye / Member	Uygun / Appropriate	
Assoc.Prof.Dr. Emel ÇALIŞKAN Üye / Member	Uygun / Appropriate	
Assoc.Prof.Dr. Meral KEKEÇOĞLU Üye / Member	Uygun / Appropriate	
Assoc.Prof.Dr. Şengül CANGÜR Üye / Member	- iznli / off-duty -	_____
Assoc.Prof.Dr. Pınar GÖÇ RASGELE Üye / Member	Uygun / Appropriate	
Dr. Recep ERGÜL Sivil Üye / Civil Member	- iznli / off-duty -	_____
Aykut EKİNCİ STK Üyesi / CSO Member	- iznli / off-duty -	_____

Düzce Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Yerel Etik Kurulu / Düzce University Experimental Animals Local Ethics Committee

Düzce Üniversitesi, Deneysel Hayvanlar Uygulama ve Araştırma Merkezi/Düzce University, Experimental Animals Application and Research Center,  
Konuralp Yerleşkesi, Merkez, 81620, Düzce, Turkey  
0850 800 81 81 – Dahili/Extension: 6835-3060-2091 Faks: 0380 5421302

