



Deneysel Çalışma / Experimental Study

Bir antiepileptik ajan olan topiramatin nöroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travma modelinde incelenmesi

Investigation of neuroprotective effects of topiramate as an antiepileptic agent in experimental spinal cord injury model

Ahmet Eroğlu,¹ Ali Kıvanç Topuz,² Hakan Şimşek,³ Cem Dinç,⁴ Dilaver Demirel,⁵ Osman İpçioğlu⁶

¹Van Asker Hastanesi, Beyin Cerrahisi Kliniği, Van, Türkiye

²Baypark Hastanesi, Beyin Cerrahisi Bölümü, İstanbul, Türkiye

³Haydarpaşa Sultan Abdülhamid Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin Cerrahisi Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁴Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin Cerrahisi Kliniği, Düzce, Türkiye

⁵Haydarpaşa Sultan Abdülhamid Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Servisi, İstanbul, Türkiye

⁶Haydarpaşa Sultan Abdülhamid Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biokimya Servisi, İstanbul, Türkiye

Geliş tarihi / Received: Temmuz 2015 Kabul tarihi / Accepted: Aralık 2015

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada spinal kord yaralanmasında antioksidan etkisi olan topiramatin sıçanlardaki nöroprotektif etkisi araştırıldı.

Gereç ve yöntemler: Çalışma 40 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan ile yapıldı. Sıçanlar yapılan işlemlere göre beş gruba ayrıldı. Grup 1 (n=8); laminektomi yapıldı, travma oluşturulmadı, tedavi verilmedi. Grup 2 (n=8); laminektomi yapıldı, travma oluşturuldu, tedavi verilmedi. Grup 3 (n=8); laminektomi yapıldı, travma oluşturuldu, salin (30 mg/kg) verildi. Grup 4 (n=8); laminektomi yapıldı, travma oluşturuldu, metilprednizolon (30 mg/kg) verildi. Grup 5 (n=8); laminektomi yapıldı, travma oluşturuldu, topiramate (30 mg/kg) verildi. Travma spinal kordun Yaşargil anevrizma klipsiyle (Aesculap FE 721 K) kliplenmesi ile oluşturuldu. Motor fonksiyonlar travma sonrası birinci günde eğik düzlem testi kullanılarak değerlendirildi. Alınan spinal kord doku örneklerinde malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Bulgular: MDA yüksekliği açısından grup 1 ile grup 4 ve grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0.013). Grup 4 ve grup 5 arasında SOD düzeyi açısından istatistiksel fark görülmedi (p=0.80). Grup 4 ve grup 5 arasında GPx düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.51). Grup 4 ve grup 5 arasında CAT düzeyi açısından istatistiksel fark görülmedi (p=0.38). Eğik düzlem testinde motor aktivite açısından grup 4 ve grup 5'in sonuçları tedavi grupları arasında en iyi değere sahipti. Histopatolojik incelemede grup 4 ve grup 5'te travma sonrası kesitlerde minimal ödem, normale yakın gri ve beyaz cevher bulguları izlendi.

Sonuç: Sıçanlarda oluşturulan akut spinal kord travma modelinde biyokimyasal belirteçler, histolojik inceleme, motor fonksiyon değerlendirme verilerine dayanılarak, topiramatin nöroprotektif etkili olduğu, omurilik travmalarının akut tedavisinde kullanılabileceği, ancak bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu görüşüydü.

Anabitar sözcükler: Nöroprotektif etki; spinal kord travması; topiramate.

ABSTRACT

Objectives: This study aims to research neuroprotective effects of topiramate that has antioxidant effects in spinal cord injury in rats.

Materials and methods: We performed the study with 40 male Wistar albino rats. We divided the rats in five groups in terms of performed procedures. Group 1 (n=8); laminectomy was performed, trauma was not created, treatment was not given. Group 2 (n=8); laminectomy was performed, trauma was created, treatment was not given. Group 3 (n=8); laminectomy was performed, trauma created, saline (30 mg/kg) was given. Group 4 (n=8); laminectomy was performed, trauma was created, methylprednisolone (30 mg/kg) was given. Group 5 (n=8); laminectomy was performed, trauma was created, topiramate (30 mg/kg) was given. The trauma was created through clipping the spinal cord by Yaşargil aneurysm clip (Aesculap FE 721 K). Motor functions were evaluated by using the inclined plane test on the first day after injury. Malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) levels in the spinal cord tissue samples taken, were measured by ELISA method.

Results: We found statistically significant difference for high levels of MDA between group 1 and groups 4 and 5 (p=0.013). There was no statistically significant difference in terms of SOD level between group 4 and group 5 (p=0.80). There was no statistically significant difference for GPx levels between group 4 and group 5 (p=0.51). There was no statistically significant difference for CAT levels between group 4 and group 5 (p=0.38). Results of group 4 and group 5 had the best value among the treatment groups in motor activity examination by inclined plane test. We observed minimal edema and near-normal gray and white matter findings in the posttraumatic sections of group 4 and group 5 in the histopathological examination.

Conclusion: We think that topiramate has a neuroprotective effect that can be used in the treatment of acute spinal cord injury in rats, based on biochemical markers, histological examination and motor function assessment data, but there is the need for further studies on this matter.

Keywords: Neuroprotective effect; spinal cord trauma; topiramate.

İletişim adresi / Corresponding author: Dr. Ahmet Eroğlu. Haydarpaşa Sultan Abdülhamid Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahi Kliniği, 34668 Üsküdar, İstanbul, Türkiye. e-posta / e-mail: drahemeteroglu@gmail.com

Cite this article as:

Eroğlu A, Topuz AK, Şimşek H, Dinç C, Demirel D, İpçioğlu O. Investigation of neuroprotective effects of topiramate as an antiepileptic agent in experimental spinal cord injury model. Turk J Phys Med Rehab 2016;62(4):355-64.

Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarla medulla spinaliste travma sonrası primer ve sekonder hasar olduğu bilinmektedir. Primer hasar travma anında olan zedelenmedir.^[1] Spinal kord yaralanmalarının seyri ve yaralanma sonrası oluşan patolojik bulgular sadece primer hasara ait değildir.^[2] Sekonder hasar ise primer yaralanma sonrası gelişen farklı fizyopatolojik mekanizmalarla ve daha uzun bir süreçte oluşur. Sekonder yaralanma kanama, ödem, aksonal veya nöronal nekroz, demiyelinizasyon, kist formasyonu ve iskemi sürecini kapsar.^[1,3-6]

Spinal kord hasarı modelleri üzerine yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda gözlemlenen temel nokta patolojik değişikliklerin hasar sonrası ilk birkaç günde geliştiğidir.^[7] Literatürde spinal kord hasarını önlemek amacıyla melatonin, eritropoetin, magnezyum sülfat, meksiletin ve naloksan gibi birçok farmakolojik ajanlar araştırılmış ve sıklıkla günümüzde etkinliği kabul edilmiş tek ajan olan yüksek doz metilprednizolon tedavisiyle karşılaştırılmıştır.^[8,9] Ancak bunlardan henüz hiçbiri rutin tedavi yöntemleri arasına girememiştir.^[10,11]

Topiramate yeni nesil antiepileptik ajan olup, migren tedavisinde de etkin olarak kullanılmaktadır.^[12] Ayrıca topiramatin vitamin C ve E ile kıyaslanabilir antioksidan aktivitesi de vardır.^[13-15] Çalışmamızda geniş spektrumlu etki mekanizmasına sahip yeni kuşak bir antikonvülzan olan topiramatin deneysel omurilik travma modeli ile sıçanlarda oluşturulan omurilik hasarı üzerindeki koruyucu ve tedavi edici etkisini araştırmak için günümüzde etkinliği bilinen ve kullanılan tek ajan olan metilprednizolon ile karşılaştırılarak biyokimyasal ve histolojik olarak incelenmesi planlandı.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.02.2012 tarih ve 03.2010.mar karar sayılı onayı ile yapıldı. Çalışma Helsinki Deklarasyonu ilkeleri uyarınca gerçekleştirildi. Çalışmada ortalama ağırlıkları 280 gram (dağılım 250-320 gr) olan 40 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı ve her bir grupta sekiz sıçan olacak şekilde rastgele beş gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol grubu): Laminektomi (+), travmatik hasar (-), tedavi (-)

Grup 2 (Travma grubu): Laminektomi (+), travmatik hasar (+), tedavi (-)

Grup 3 (Salin grubu): (30 mg/kg intraperitoneal; İ.P.): Laminektomi (+), travmatik hasar (+), salin (+)

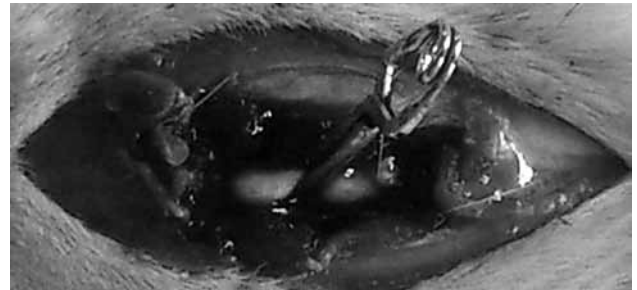
Grup 4 (Metilprednizolon grubu) (30 mg/kg İ.P.): Laminektomi (+), travmatik hasar (+), Metilprednizolon (+)

Grup 5 (Topiramate grubu) (30 mg/kg İ.P.): Laminektomi (+), travmatik hasar (+), topiramate (+)

Cerrahi işlem sırasında antisepsi kurallarına uyuldu. Tüm hayvanların sırt bölgesi anestezi altında tıraş edilerek polivinil piroolidon iyot ile lokal antisepsi uygulandı. Sıçanların torakal 7-10 vertebraları arası laminaları ortaya konarak total laminektomi uygulandı. Bu işlem yapılırken hayvanların dura materlerinin zedelenmemesine dikkat edildi. Standart travma amacı ile Tator ve Rivliv'in^[16] tanımladığı klipsleme yöntemi kullanıldı. Yaşargil anevrizma klipsi (Aesculap FE 721K) (Aesculap AG, Tuttlingen, Germany) ile dura ve spinal kord çevre olarak klipslendi (Şekil 1).

Grup 1 sıçanlar kontrol grubu idi ve sadece total laminektomi yapıldı. Grup 2 sıçanlar travma grubu idi ve ilave olarak spinal kord hasarı yapıldı ancak bir tedavi verilmedi. Grup 3 sıçanlara spinal kord hasarı sonrası 3. saatte İ.P. 30 mg/kg salin verildi. Grup 4 sıçanlara spinal kord hasarı sonrası 3. saatte İ.P. 30 mg/kg metilprednizolon verildi. Grup 5 sıçanlara spinal kord hasarı sonrası İ.P. 30 mg/kg saf topiramate verildi. Tüm gruplar cerrahi işlem sonrası 24. saatte (maksimum ödem formasyonu olduğunda) fonksiyonel olarak değerlendirildi ve sıçanlar sakrifiye edildi. Daha sonra deneklerin spinal kordları ve *en-blok* eksize edilerek alınan doku örnekleri patoloji ve biyokimya laboratuvarlarına gönderildi.

Biyokimyasal değerlendirmede; her gruptan sekiz denegin 127-190 mg arasında değişen doku örnekleri %0.9 NaCl içinde Janke-Kunke marka ultraturrax T-25 model doku homojenizatör cihazı (IKA®-Werke GmbH & Co. KG., Staufen, Breisgau, Germany) kullanılarak homojenize edildi. Homojenize edilen



Şekil 1. Laminektomi sonrası ekstradural olarak bir dakika süre ile Yaşargil anevrizma klipsi uygulanarak spinal kord travması oluşturuldu.

Tablo 1. Klinik motor muayenede Tarlow'un tanımladığı skala

Grade I	Flask paralizi
Grade II	Arka bacaklarda minimal istemli hareket mevcut
Grade III	Ayakta durabiliyor, gövdeye aktif destek var ancak yürüyemiyor
Grade IV	Yürüme mevcut ancak inkoordinasyon ve spastisite var
Grade V	Normal yürüyüş.

örnekler, Hettick- Universal 320-R marka santrifüj cihazı (Hettich Lab Technology, Tuttlingen, Germany) kullanılarak 5000 RPM, +4 derecede, 30 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda oksidatif stres parametreleri olan malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. Ölçülen aktiviteler Lowry yöntemi ile doku gram protein başına oranlanarak hesaplandı.

Nörolojik değerlendirme; sıçanların fonksiyonel iyileşmeleri, Rivliv ve Tator tarafından tanımlanan^[17] ve deneysel akut omurilik yaralanmalarında sıkça kullanılan eğik düzlem testi yöntemi ile değerlendirildi. Denek, düzgün zemin üzerinde yere paralel olarak yerleştirilmiş, gereğinde 60 dereceye kadar açılabilir bir platform üzerine konuldu. Daha sonra platformun eğimi 10'ar derece artırılarak deneğin 5 saniye boyunca düşmeden durabildiği en yüksek açı, eğik düzlem açısı olarak kabul edildi. Çalışmamızda bütün gruplardaki sıçanlara cerrahi işlem sonrası 1. günde eğik düzlem testi uygulandı.

Klinik motor muayenede; Tarlow'un tanımladığı skala kullanıldı (Tablo 1).^[17]

Histopatolojik incelemede; sıçanların spinal kordlarının, hasar seviyesinin 1 cm distal ve proksimaline kadar uzanan kısmı travma sonrası 1. günde alınarak %10 formaldehit içine konuldu, parafin ile bloklandıktan sonra kesitler alınarak hematoksil-eozin ile boyandı ve daha sonra ışık mikroskopunda incelendi.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler Windows için SPSS 15.0 versiyon (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar için Kruskal Wallis testi kullanıldı. İkili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U test kullanıldı. İlişki miktarları Spearman korelasyon katsayısı ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık 0.95 önem düzeyinde 'p' değerinin 0.05'ten küçük olması durumunda kullanıldı.

BULGULAR

Birinci gün sonunda ölçülen MDA (pmol/mg protein) değerleri grup 1'de 3.79±0.50, grup 2'de 3.30±0.61, grup 3'te 3.25±0.48, grup 4'te 2.59±0.34 ve grup 5'te 2.64±0.33 olarak bulundu (Tablo 2). Malondialdehit değerleri yönünden gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında fark saptandı (p=0.018). Grup 1'deki MDA yüksekliği grup 4 (p=0.004) ve grup 5 (p=0.015), grup 2'deki MDA yüksekliği grup 4 (p=0.026) ve grup 5 (p=0.035), grup 3'deki MDA yüksekliği grup 4 ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0.032). Spinal travmada MDA düzeyindeki artışın grup 4 ve 5'te istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi (Şekil 2). Grup 4 ve grup 5 arasında ise MDA düzeyi açısından istatistiksel fark görülmedi (p=0.77).

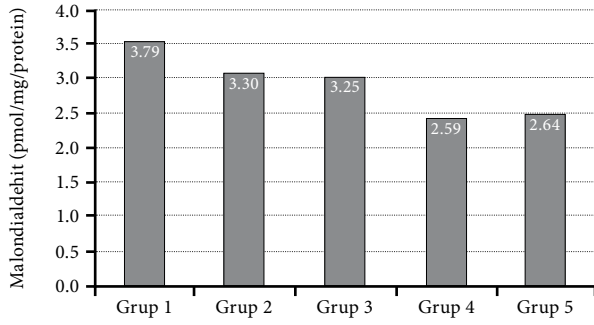
Birinci gün sonunda ölçülen SOD (U/mg protein) değerleri grup 1'de 6.08±3.45, grup 2'de 4.11±2.53, grup 3'te 4.98±4.74, grup 4'te 8.72±6.78 ve grup 5'te 7.81±3.50 olarak bulundu (Tablo 3). Gruplar birbiri ile kıyaslandığında istatistiksel anlamlı fark saptandı (p=0.045). Bu fark grup 2 ile grup 5 arasındaki farktan kaynaklanmaktaydı (p=0.005). Grup 4 ve grup 5 arasında ise SOD düzeyi açısından istatistiksel fark görülmedi (p=0.80) (Şekil 3).

Birinci gün sonunda ölçülen GPx (nmol/dk/mg protein) değerleri grup 1'de 18.52±15.28, grup 2'de 11.19±3.80, grup 3'te 15.81±11.00, grup 4'te 25.02±18.03

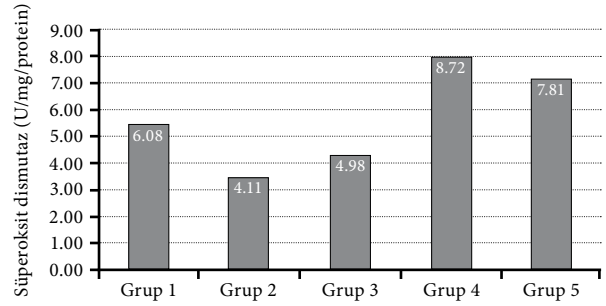
Tablo 2. Gruplara ait malondialdehit (pmol/mg/protein) düzeyleri

Malondialdehit	Ort.±SS	Ortanca değer	Min.-Maks.	Grup 1'e göre	Grup 2'e göre	Grup 3'e göre	Grup 4'e göre
				p	p	p	p
Grup 1 (n=8)	3.79±0.50	3.50	2.31-4.22				
Grup 2 (n=8)	3.30±0.61	3.20	3.08-3.87	0.052			
Grup 3 (n=8)	3.25±0.48	3.22	3.02-3.93	0.07	0.87		
Grup 4 (n=8)	2.59±0.34	2.62	1.92-2.97	0.0018	0.0061	0.0044	
Grup 5 (n=8)	2.64±0.33	2.65	1.98-3.01	0.0016	0.0062	0.008	0.51

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; Min.: Minimum; Maks.: Maksimum.



Şekil 2. Gruplara ait malondialdehit düzeyleri.



Şekil 3. Gruplara ait süperoksit dismutaz düzeyleri.

ve grup 5'te 24.06 ± 2.35 olarak bulundu (Tablo 4). Glutasyon peroksidaz değerleri yönünden gruplar arasında fark vardı ($p=0.034$). Bu fark grup 2 ile grup 5 ($p=0.002$) ve grup 3 ile grup 5 ($p=0.017$) arasındaki istatistiksel farktan kaynaklanmaktaydı. Spinal travmada GPx düzeyi istatistiksel olarak azalmaktadır. ($p=0.004$; $r=0.45$; Spearman korelasyon katsayısı). En yüksek GPx düzeyinin grup 4 ve 5'te olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı oranda arttığı gözlemlendi (Şekil 4). Grup 4 ve grup 5 arasında GPx düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.51$).

Birinci gün sonunda ölçülen CAT (nmol/dk/mg protein) değerleri grup 1'de 18.68 ± 6.38 , grup 2'de 13.53 ± 8.36 , grup 3'te 15.24 ± 12.2 , grup 4'te 25.45 ± 22.89 ve grup 5'te 21.27 ± 6.74 olarak bulundu (Tablo 5). Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark vardı ($p=0.037$).

Bu fark grup 2 ile grup 5 arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farktan kaynaklanmaktaydı ($p=0.002$). En yüksek CAT düzeyinin grup 4 ve 5'te olduğu gözlemlendi (Şekil 5). Aynı şekilde grup 4 ve grup 5 arasında CAT düzeyi açısından istatistiksel fark görülmedi ($p=0.38$).

Grup 2 ile grup 4 ve 5'in karşılaştırılmasında (lojistik regresyon analizi); MDA düzeyleri grup 2'ye kıyasla grup 4'te %0.6 kat, grup 5'te ise %0.5 kat daha azdı ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.001$). Sodyum ve CAT düzeylerinde ise grup 2'ye kıyasla grup 5'te istatistiksel anlamlılık olan 0.05 değerine yakın anlamlılık görüldü. Grup 2'ye kıyasla grup 5'te SOD düzeyi %218, CAT düzeyi ise %116 kat artmış idi (Tablo 6).

Nörolojik bulgular: Eğik düzlem testinde deneğin 5 saniye boyunca düşmeden durabildiği en yüksek açı

Tablo 3. Gruplara ait süperoksit dismutaz (U/mg/protein) düzeyleri

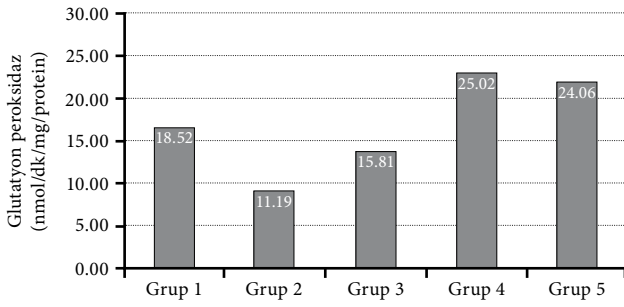
Süperoksit dismutaz	Ort.±SS	Ortanca değer	Min.-Maks.	Grup 1'e	Grup 2'e	Grup 3'e	Grup 4'e
				göre	göre	göre	göre
				<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>
Grup 1 (n=8)	6.08±3.45	6.05	1.93-10.88				
Grup 2 (n=8)	4.11±2.53	4.15	1.54-7.42	0.40			
Grup 3 (n=8)	4.98±4.74	5.02	1.85-9.55	0.40	0.92		
Grup 4 (n=8)	8.72±6.78	8.75	2.22-14.83	0.67	0.14	0.17	
Grup 5 (n=8)	7.81±3.50	7.80	3.69-11.90	0.06	0.02	0.09	0.80

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; Min.: Minimum; Maks.: Maksimum.

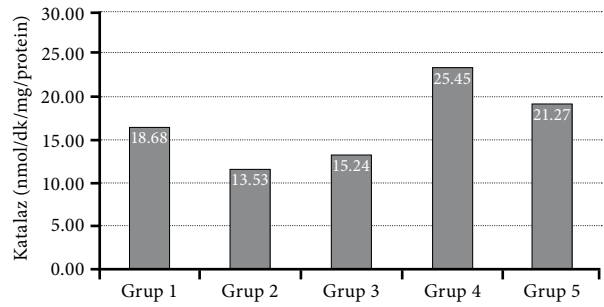
Tablo 4. Gruplara ait glutasyon peroksidaz (nmol/dk/mg/protein) düzeyleri

Glutasyon peroksidaz	Ort.±SS	Ortanca değer	Min.-Maks.	Grup 1'e	Grup 2'e	Grup 3'e	Grup 4'e
				göre	göre	göre	göre
				<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>
Grup 1 (n=8)	18.52±15.28	18.45	3.20-29.62				
Grup 2 (n=8)	11.19±3.80	11.21	5.40-16.30	0.34			
Grup 3 (n=8)	15.81±11.00	15.90	4.37-27.73	0.99	0.34		
Grup 4 (n=8)	25.02±18.03	25.10	6.13-44.50	0.53	0.17	0.29	
Grup 5 (n=8)	24.06±2.35	24.02	20.22-28.47	0.02	0.0007	0.011	0.51

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; Min.: Minimum; Maks.: Maksimum.



Şekil 4. Gruplara ait glutatyon peroksidaz düzeyleri.



Şekil 5. Gruplara ait katalaz düzeyleri.

grup 4'te yaklaşık 48 derece iken, grup 5'te yaklaşık 42 derece ölçüldü. Bu parametre yönünden gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulundu ($p=0.032$). Grup 4 ve 5 kendi aralarında karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0.538$). Grup 4 ve 5'in sonuçları tedavi grupları arasında en iyi sonuca sahipti (Şekil 6).

Histopatolojik bulgular: Grup 1: 24. saatte normal bulgular saptandı. Kontrol grubunun ışık mikroskopik incelemelerinde omuriliğin gri cevher ve beyaz cevher nöroglial yapılanması normaldi (Şekil 7).

Grup 2: Travma grubuna ait kesitlerde nekroz, polimorf lökosit infiltrasyonu ile birlikte çevre dokuda infarkt ile uyumlu görünüm ve aksonal şişme izlendi (Şekil 8).

Grup 3: Travma sonrası salin uygulanan gruba ait kesitlerde nekroz, beyaz ve gri cevherde ödem, hemoraji ve aksonal şişme izlendi (Şekil 9).

Grup 4: Travma sonrası metilprednizolon uygulanan gruba ait kesitlerde minimal ödem, normale yakın gri ve beyaz cevher bulguları izlendi (Şekil 10).

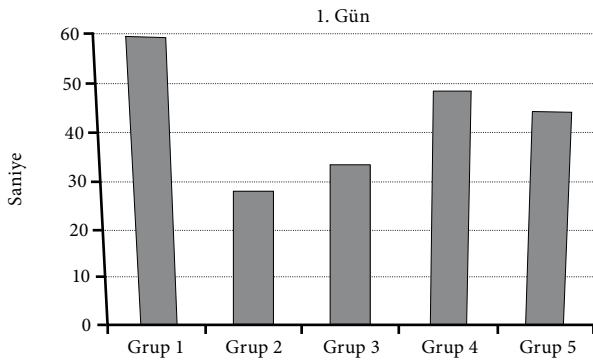
Tablo 5. Gruplara katalaz (nmol/dk/mg protein) düzeyleri

Katalaz	Ort.±SS	Ortanca değer	Min.-Maks.	Grup 1'e	Grup 2'e	Grup 3'e	Grup 4'e
				göre	göre	göre	göre
				<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>
Grup 1 (n=8)	18.68±6.38	18.72	11.81-25.37				
Grup 2 (n=8)	13.53±8.36	13.67	7.52-22.91	0.29			
Grup 3 (n=8)	15.24±12.2	15.10	3.41-29.15	0.21	0.92		
Grup 4 (n=8)	25.45±22.89	25.40	3.67-48.52	0.75	0.53	0.34	
Grup 5 (n=8)	21.27±6.74	21.15	13.48-28.92	0.46	0.046	0.12	0.38

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; Min.: Minimum; Maks.: Maksimum.

Tablo 6. Grup 2 ile grup 4 ve 5 karşılaştırılması (lojistik regresyon analizi)

Grup 2	B	Wald	<i>p</i>	Exp(B)	95.0% CI for Exp(B)	
					Lower	Upper
Malondialdehit						
Grup 4 (n=8)	-5.12	4.44	0.03	0.006	0.000	0.698
Grup 5 (n=8)	-5.23	3.96	0.04	0.005	0.000	0.924
Süperoksit dismutaz						
Grup 4 (n=8)	0.24	2.12	0.15	1.275	0.919	1.769
Grup 5 (n=8)	0.78	2.98	0.08	2.184	0.900	5.299
Glutathyon peroksidaz						
Grup 4 (n=8)	0.13	1.97	0.16	1.137	0.951	1.359
Grup 5 (n=8)	17.93	0.001	0.99	-	-	-
Katalaz						
Grup 4 (n=8)	0.07	1.22	0.27	1.076	0.945	1.226

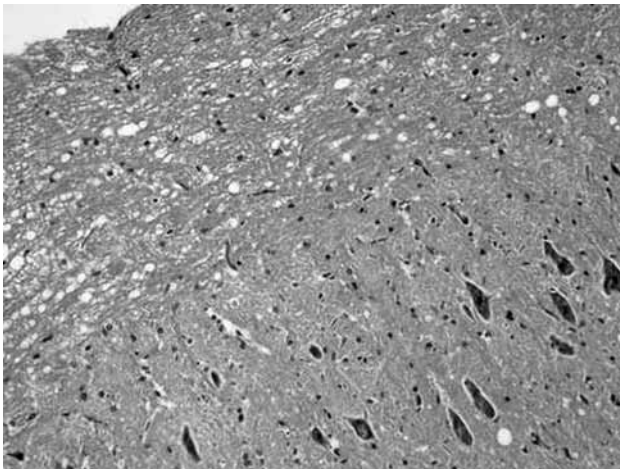


Şekil 6. Zamana göre eğik düzlem testi dereceleri.

Grup 5: Travma sonrası topiramamat uygulanan gruba ait kesitlerde ödem daha minimal, gri ve beyaz cevher bulguları ise normale yakın izlendi (Şekil 11).

TARTIŞMA

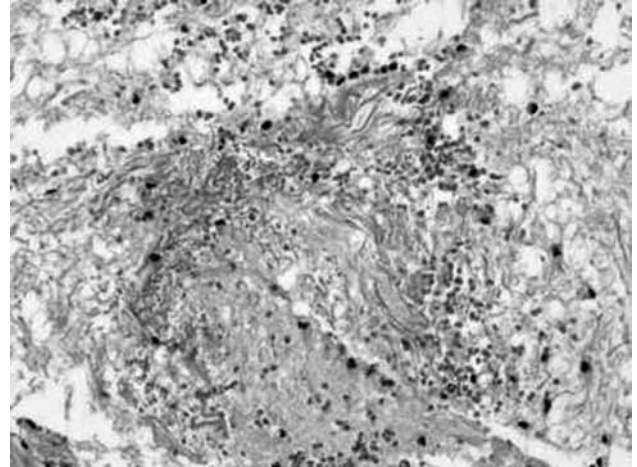
Primer yaralanmanın tetiklediği sekonder yaralanmanın ortaya çıkmasındaki en önemli etkenlerden biri iskemiye bağlı enerji yetersizliğidir.^[6,7] İskemi, dokulara yeterli glukoz ve oksijen sağlanamamasına, dolaylı olarak da enerji yetersizliği ve adenozin trifosfat depolarında azalmaya neden olur. Bu nedenle sistem anaerobik solunuma geçer. İskemi ve takip eden anaerobik solunum pek çok patolojik sürecin tetiklenmesine yol açar. Omurilik vasküler yatağında otoregülasyonun bozulması ve perfüzyon basıncının düşmesi ile dokulara gereksinim duyduğu kadar metabolit ve oksijen ulaşmasını engelleyen bir diğer neden de spinal şoktur.^[7] Tator ve Fehlings^[17] posttravmatik iskeminin sekonder yaralanmanın merkezini oluştur-



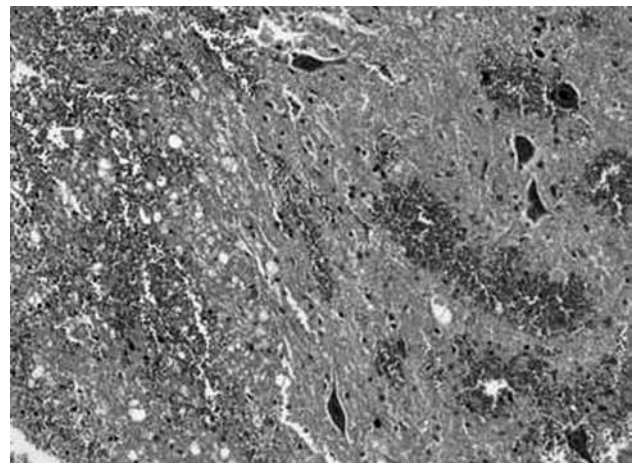
Şekil 7. Kontrol grubunun ışık mikroskopik incelemelerinde omuriliğin normal gri cevher, beyaz cevher nöroglial yapılanması normal görülmekte (H-E x 100).

duğunu, tedavi edilebilir ve geri dönüşümlü olduğunu savunmaktadır.

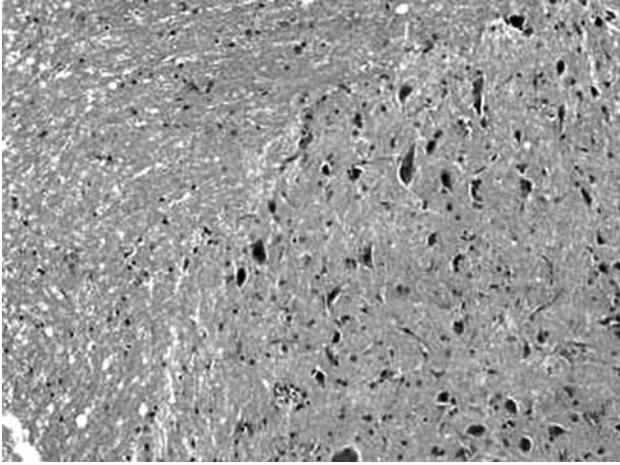
Sekonder hasar mekanizmalarından bazıları serbest radikal teorisi, lipid peroksidasyonu ve enflamatuvar değişikliklerdir.^[7] Serbest radikal, dış yörüngesinde çiftlenmemiş serbest elektron bulduran kimyasal bileşiktir. Bu elektron başka biyolojik moleküllere aktararak oksidasyona yol açar. Serbest radikallerin aşırı artışı hücre ölümüne neden olur.^[18,19] Yoğun serbest radikal oluşumunun önlenmesi hücre yaşamı için önemli bir adımdır. Çünkü normal hücresel solunum işlemlerinde devamlı olarak potansiyel oksijen toksik metabolitleri oluşur.^[7,20,21]



Şekil 8. Travma grubuna ait kesitlerde nekroz, polimorf lökosit infiltrasyonu ve çevre dokuda infarkt ve hemoraji ile uyumlu görünüm (H-E x 400).



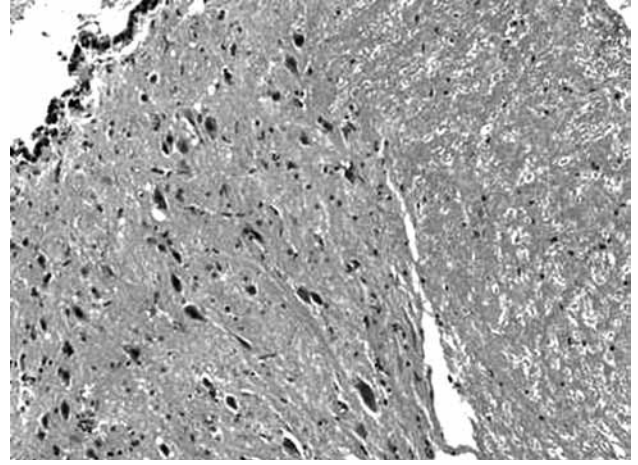
Şekil 9. Travma sonrası salin uygulanan gruba ait kesitlerde nekroz, beyaz ve gri cevherde ödem, hemoraji aksonal şişme (H-E x 400).



Şekil 10. Travma sonrası metilprednizolon uygulanan gruba ait kesitlerde minimal ödem, normale yakın gri ve beyaz cevher bulguları (H-E x 400).

Serbest radikaller hücreyi oluşturan tüm yapılarla reaksiyona girebilirler ancak bu etkileşimde en hassas yapılar lipidlerdir.^[21] Yüksek oranda poliansatüre yağ asitleri içeren hücre membranının yıkılması, serbest radikallere bağlı nöronal hasar oluşmasının en önemli aşamasıdır.^[7,22] Serbest yağ asitlerinin serbest radikal ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipid peroksidasyon düzeyi lipid peroksidasyonu sırasında oluşan MDA gibi ara ürünler aracılığı ile tayin edilmektedir.^[23] Çalışmamızda topiramatin MDA düzeyini metilprednizolona yakın, diğer tedavi gruplarına kıyasla anlamlı oranda düşürdüğü tespit edildi (Şekil 2). Topiramatin ve metilprednizolon arasında ise MDA düzeyi açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0.77$).

Sekonder hasar oluşumunda yer alan glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun nöronal hasarı şiddetlendirdiği Olney ve ark.^[24] tarafından gösterilmiş ve eksitotoksitite olarak isimlendirilmiştir. Travma sonrası glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonu erken evrede intraselüler Na^+ artışı ile nöronal şişme ve lizise neden olurken, bir sonraki aşamada artan intraselüler Ca^{+2} ile birlikte kalsiyuma bağımlı lipaz ve proteazların aktivasyonuna yol açarak hücre membranının ve nöroflamanların hasarına neden olur.^[25] Ayrıca glutamat toksitesisi lipid peroksidasyonunun başlaması, $Na-K$ adenozin trifosfat inhibisyonu, membran kanal inaktivasyonu ve solunum zinciri enzim inhibisyonu gibi mekanizmalarla nöronal oluşumu şiddetlendiren reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin meydana gelmesine yol açar.



Şekil 11. Travma sonrası topiramatin uygulanan gruba ait kesitlerde minimal ödem ve nötrofil infiltrasyonu, normale yakın gri ve beyaz cevher bulguları (H-E x 400).

Glutamat reseptör aktivasyonu, sekonder yaralanmayı tetikleyerek iskemik hasarda anahtar rol oynayabilir. Glutamat reseptörlerinin uyarılması, önce Na^+ 'nın hücre içine toplanarak sitotoksik ödem oluşmasına neden olur.^[26,27] Follett ve ark.^[28] sıçanlarda yaptıkları periventriküler lökomalazi modelinde topiramatin glutamat, alfa-amino-3-hidroksi-5metilizoksazol-4-propionat-kainat (AMPA-kainat) reseptör blokajı ile nöroprotektif etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Birçok araştırmacı nörolojik fonksiyonları düzeltmek amacıyla akut omurilik yaralanması patofizyoloji mekanizmaları üzerinde değişik yöntemler bulmaya çalışmaktadır.^[7] Tator ve Fehlings^[17] posttravmatik omurilik kan akımını artıran, kan transfüzyonu, dopamin, adrenalin ve nimodipin kombinasyonu, nimodipin ve dextran kombinasyonunun aksonal fonksiyonları düzelttiğini gözlemlemişlerdir. Faden ve ark.^[29] bir nonselektif opiat antagonisti olan naloksanın omurilik kan akımını ve klinik iyileşmeyi düzelttiğini saptamıştır. AMPA-kainat reseptör blokörü olan topiramatin glial kaybı azalttığı ve sekonder yaralanmaya yol açan kaskatın önüne geçtiği, periventriküler lökomalazi modellerinde gösterilmiştir.^[25,28,30]

Literatürde yeni tedavi yöntemlerinin yüksek doz metilprednizolon tedavisiyle karşılaştırılması yapılmış ve kombine tedavileri denenmiş birçok çalışma bulunmaktadır.^[8,9] Young ve Bracken^[22] tarafından omurilik hasarına yönelik tüm tedavi yaklaşımlarının metilprednizolonun agonist çalışmasıyla karşılaştırılması tavsiye edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda eritropoetin, deferoxamin, naloksan, askorbik asit, E vitamini gibi bazı maddeler metilprednizolon ile

karşılaştırılmış, reaktif oksijen türevlerinin etkilerini baskılayarak ve metabolik dengeyi sağlayarak etki gösterdikleri bildirilmiştir.^[13] Topiramatin hipoksi-skemi sıçan modellerinde erken dönemde (ilk 6 saat) sodyum kanallarının blokajı, GABAerjik sinir iletisinin artırılması, eksitator amino asit reseptörlerinin (Glutamat) antagonizması ve kalsiyum kanallarının blokajı mekanizmaları ile sekonder hasarı azaltarak MDA seviyelerindeki artışı önlediği, glutatyon seviyesindeki azalmayı engellediği, bütün dokularda SOD, CAT ve GPx aktivitesinin azalmasını önlediği, böylece oluşan serbest radikal miktarının azlığına bağlı olarak beyin hasarını azalttığı gösterilmiştir.^[28,30,31]

Reaktif oksijen türevlerinin biyolojik membranlarda hasar oluşturan lipid peroksidasyonuna neden olduğuna inanılmaktadır. Hücrelerin dokuları serbest radikal hasarına karşı koruyan antioksidan mekanizmaları vardır. Endojen antioksidan olan GPx ve SOD bu defans mekanizmalarının başında gelirler ve potansiyel olarak hasar yapan serbest radikal gruplarını kurtararak etki gösterirler.^[7] Metilprednizolonun serbest radikal hasarına karşı MDA'yı azalttığı, CAT, GPx, SOD seviyesini artırarak hem motor hem de duyuşal fonksiyonlarda belirgin düzelme yaptığı gösterilmiş, spinal kord travmasında rutin tedavi programında yerini almıştır.^[22] Kanter ve ark.,^[32] Kahraman ve ark.^[33] ve Kalaycı ve ark.^[34] yaptıkları spinal kord travma modeli çalışmalarında; spinal kord dokusunda MDA seviyesinin arttığını, CAT, SOD ve GPx seviyelerinin azaldığını, metilprednizolon tedavisi verilen grupta MDA seviyesinin azaldığını, SOD, CAT ve GPx enzim seviyelerinin arttığını göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda spinal kord travma modelinde serumda lipid peroksidasyon belirteci olan MDA'nın serum düzeyinin artmış olduğunu, CAT, SOD ve GPx seviyelerinin azaldığını belirledik. Topiramatin ve metilprednizolon grubunda MDA seviyesinde azalma (Şekil 2), CAT, SOD ve GPx seviyelerinde ise diğer tedavi grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı oranda artış olduğunu belirledik (Şekil 3-5).

Topiramatin nöroprotektif etkileri oluşturulan spinal kord travma modellerinde alınan doku örneklerinde yapılan histolojik incelemeler ile gösterilmiştir.^[28,35] Gensel ve ark.^[35] sıçanlarda oluşturdukları servikal spinal kord travma modelinde topiramatin nöroprotektif etkilerini histolojik kesitlerde incelemişler, beyaz ve gri cevherde oluşan ödem ve inflamasyonun topiramatin verilen grupta diğer gruplara kıyasla anlamlı oranda azaldığını göstermişlerdir. Biz çalışmamızda torakal spinal kord travma modelinde topiramatin uygulanan gruba ait kesitlerde daha minimal

ödem, gri ve beyaz cevher bulgularını ise normale yakın olarak izledik.

Follett ve ark.^[28] periventriküler lökomalazi modelinde immatür sıçanlarda topiramatin uyguladıkları sıçanlarda motor defisitinin önemli oranda düzeldiğini, kas gerginliği ve koordinasyon hareketlerinin düzeldiğini eğik düzlem tırmanma testinde gösterdiklerini bildirmişlerdir. Gensel ve ark.^[35] sıçanlarda servikal spinal kord travma modelinde topiramatin verilen grupta lökomotor hareketlilikte kuyruk hareketi, gövde dengesi ve pençe hareketini gözlemişler ve topiramatin diğer tedavi gruplarına kıyasla anlamlı oranda lökomotor aktivitede düzelme sağladığını -Basso Beattie Bresnahan lökomotor iyileşme testi^[36] verilerine dayanarak belirlemişlerdir.^[35] Biz çalışmamızda motor aktiviteyi eğik düzlem testi ile değerlendirdik. Topiramatin verdiğimiz grupta motor fonksiyonların metilprednizolon grubuna yakın, diğer tedavi gruplarına oranla daha iyi olduğunu belirledik (Şekil 6).

Topiramatin, doğal monosakkarit D-fruktozun sülfamat bulunduran bir bileşeni olup, geniş spektrumlu etki mekanizması olan yeni kuşak antikonvülsandır.^[25,30,37] Hüresel düzeyde yaygın farmakodinamik etkiler göstermesi diğer antiepileptik ilaçlardan ayrılan önemli bir özelliğidir.^[28] Topiramatin *in vivo* antiepileptik etkinlik gösterdiği dozlarda (30 mg/kg), birkaç farklı etki mekanizmasına sahiptir. Bunlar; sodyum kanallarının blokajı, GABAerjik sinir iletisinin artırılması, eksitator aminoasit reseptörlerinin (Glutamat) antagonizması veya kalsiyum kanallarının blokajı şeklindedir.^[28,31]

Yeni grup antiepileptiklerden olan levetirasetam, topiramatin ve zonisamidin nöroprotektif etki çalışmalarının hayvan model çalışmalarına göre fikir verebileceği belirtilmiş,^[27] fasiyal sinir lezyonlu sıçan modellerinde,^[38] hasarlı periferik sinirler üzerinde^[14] topiramatin nöroprotektif etkisinin nöronal apoptozisi azalttığı, glial ve astroglial aktivasyonu inhibe ettiği, nöbet insidansını azaltarak nöroprotektif etki sağladığı bildirilmiştir.^[14,15,25]

Topiramatin, birçok reseptör yolu ile etkisini gösterebilmesi, toksik değerlerinin ancak yüksek konsantrasyonlarda olması nedeni ile spinal kord travması tedavisinde kullanılması mümkün olabilecek bir maddedir. Topiramatin MDA seviyesinde artışı, glutatyon ve SOD aktivitesinde azalmayı, dolayısıyla lipid peroksidasyonunu engelleyerek bu iyileşmeyi sağladığını düşünmek mümkündür. Topiramatin gelecekte yapılacak olan daha fazla *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar sayesinde posttravmatik spinal kord hasarında cerrahi

dekompresyonu takiben spinal kord yaralanması tedavi protokolünde bir yer edinebilecektir.

Sonuç olarak, omurilik yaralanmasının doğasını anlamamızda yeni ufuklar açabilecek ve yol gösterici tedavi yöntemleri geliştirmemizi sağlayacak şekilde deneysel hayvan omurilik travma modelleri üzerinde yoğun bir çalışma vardır. Spinal kord yaralanmasının tedavisine yönelik bugüne kadar yapılan araştırmalar ile önemli mesafe kat edilmesine rağmen halen kalıcı ve anlamlı derecede etkiye sahip evrensel bir tedavi protokolü geliştirilememiştir.^[4,5]

Topiramatin sıçanlarda spinal kord travma modeli kullanılarak yapılan omurilik hasarlanmasında; CAT, SOD, GPx, MDA değerleri, eğik düzlem testi kullanılarak yapılan motor fonksiyon değerlendirmeleri ve ışık mikroskopik inceleme verilerine dayanılarak; nöroprotektif olduğu ve omurilik travma tedavisinde kullanılabilirliği görüşünderiz. Ancak klinik kullanım için insanlar üzerinde *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

- 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;26:101-10.
- Hardman JM, Davis RL, Robertson DM, editors. *Textbook of Neuropathology*. Baltimore: William & Wilkins; 1997. p. 1212-15.
- Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kirnap M, Dursun H, et al. Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord* 2000;38:697-701.
- Zileli M. Omurilik Yaralanmasının Farmakolojik Tedavisi. In: Zileli M, Ozer F, editörler. *Omurilik ve Omurga Cerrahisi*. 1. Baskı. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık; 1997. s. 466-78.
- Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med* 1990;322:1405-11.
- Agrawal SK, Nashmi R, Fehlings MG. Role of L- and N-type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience* 2000;99:179-88.
- 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;24:254-64.
- Cayli SR, Kocak A, Yılmaz U, Tekiner A, Erbil M, Ozturk C, et al. Effect of combined treatment with melatonin and methylprednisolone on neurological recovery after experimental spinal cord injury. *Eur Spine J* 2004;13:724-32.
- Fee DB, Swartz KR, Joy KM, Roberts KN, Scheff NN, Scheff SW. Effects of progesterone on experimental spinal cord injury. *Brain Res* 2007;1137:146-52.
- Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, et al. Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or tirilazad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury Randomized Controlled Trial. *National Acute Spinal Cord Injury Study*. *JAMA* 1997;277:1597-604.
- Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med* 1990;322:1405-11.
- Pappalardo A, Liberto A, Patti F, Reggio A. Neuroprotective effects of topiramate. *Clin Ter* 2004;155:75-8. [Abstract]
- Lee SR, Kim SP, Kim JE. Protective effect of topiramate against hippocampal neuronal damage after global ischemia in the gerbils. *Neurosci Lett* 2000;281:183-6.
- Bischofs S, Zelenka M, Sommer C. Evaluation of topiramate as an anti-hyperalgesic and neuroprotective agent in the peripheral nervous system. *J Peripher Nerv Syst* 2004;9:70-8.
- Smith-Swintosky VL, Zhao B, Shank RP, Plata-Salaman CR. Topiramate promotes neurite outgrowth and recovery of function after nerve injury. *Neuroreport* 2001;12:1031-4.
- Schwab ME, Bartholdi D. Schwab ME, Bartholdi D. *Physiol Rev* 1996;76:319-70.
- 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.
- Suzuki T, Tatsuoka H, Chiba T, Sekikawa T, Nemoto T, Moriya H, et al. Beneficial effects of nitric oxide synthase inhibition on the recovery of neurological function after spinal cord injury in rats. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2001;363:94-100.
- Agrawal SK, Fehlings MG. Mechanisms of secondary injury to spinal cord axons in vitro: role of Na⁺, Na⁽⁺⁾-K⁽⁺⁾-ATPase, the Na⁽⁺⁾-H⁺ exchanger, and the Na⁽⁺⁾-Ca²⁺ exchanger. *J Neurosci* 1996;16:545-52.
- Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999;44:1027-39.
- İplikcioglu C. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. In: Zileli M, Ozer F, editörler. *Omurilik Omurga Cerrahisi*. 1. Baskı. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık; 1997. s. 459-65.
- Young W, Bracken MB. The Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *J Neurotrauma* 1992;9:397-405.
- Christie SD, Comeau B, Myers T, Sadi D, Purdy M, Mendez I. Duration of lipid peroxidation after acute spinal cord injury in rats and the effect of methylprednisolone. *Neurosurg Focus* 2008;25:5.
- Olney JW, Rhee V, Gubareff TD. Neurotoxic effects of glutamate on mouse area postrema. *Brain Res* 1977;120:151-7.

25. Poulsen CF, Simeone TA, Maar TE, Smith-Swintosky V, White HS, Schousboe A. Modulation by topiramate of AMPA and kainate mediated calcium influx in cultured cerebral cortical, hippocampal and cerebellar neurons. *Neurochem Res* 2004;29:275-82.
26. Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kirnap M, Dursun H, Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord* 2000;38:697-701.
27. Willmore LJ. Antiepileptic drugs and neuroprotection: current status and future roles. *Epilepsy Behav* 2005;7:25-8.
28. Follett PL, Deng W, Dai W, Talos DM, Massillon LJ, Rosenberg PA, et al. Glutamate receptor-mediated oligodendrocyte toxicity in periventricular leukomalacia: a protective role for topiramate. *J Neurosci* 2004;24:4412-20.
29. Faden AI, Jacobs TP, Smith MT, Zivin JA. Faden AI, Jacobs TP, Smith MT, Zivin JA. *Eur J Pharmacol* 1984;103:115-20.
30. Glier C, Dzierko M, Bittigau P, Jarosz B, Korobowicz E, Ikonomidou C. Therapeutic doses of topiramate are not toxic to the developing rat brain. *Exp Neurol* 2004;187:403-9.
31. Schubert S, Brandl U, Brodhun M, Ulrich C, Spaltmann J, Fiedler N, et al. Neuroprotective effects of topiramate after hypoxia-ischemia in newborn piglets. *Brain Res* 2005;1058:129-36.
32. Kanter M, Coskun O, Kalayci M, Buyukbas S, Cagavi F. Neuroprotective effects of *Nigella sativa* on experimental spinal cord injury in rats. *Hum Exp Toxicol* 2006;25:127-33.
33. Kahraman S, Düz B, Kayali H, Korkmaz A, Oter S, Aydın A, et al. Effects of methylprednisolone and hyperbaric oxygen on oxidative status after experimental spinal cord injury: a comparative study in rats. *Neurochem Res* 2007;32:1547-51.
34. Kalayci M, Coskun O, Cagavi F, Kanter M, Armutcu F, Gul S, et al. Neuroprotective effects of ebselen on experimental spinal cord injury in rats. *Neurochem Res* 2005;30:403-10.
35. Gensel JC, Tovar CA, Bresnahan JC, Beattie MS. Topiramate treatment is neuroprotective and reduces oligodendrocyte loss after cervical spinal cord injury. *PLoS One* 2012;7:33519.
36. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma* 1995;12:1-21.
37. Lee HJ, Ghelardoni S, Chang L, Bosetti F, Rapoport SI, Bazinet RP. Topiramate does not alter the kinetics of arachidonic or docosahexaenoic acid in brain phospholipids of the unanesthetized rat. *Neurochem Res* 2005;30:677-83.
38. Smith-Swintosky VL, Zhao B, Shank RP, Plata-Salaman CR. Topiramate promotes neurite outgrowth and recovery of function after nerve injury. *Neuroreport* 2001;12:1031-4.