

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL AKUT SPİNAL KORD HASARINDA MYRICETİN'İN
NÖROPROTEKTİF ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

DR SERDAR KAPLAN

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2023

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL AKUT SPİNAL KORD HASARINDA MYRICETİN'İN
NÖROPROTEKTİF ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

DR SERDAR KAPLAN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN : PROF. DR. FATİH KESKİN

KONYA, 2023

TEŞEKKÜR

Bu deneysel tez çalıŐması, 13.04.2022 karar tarihli ve 2022-017 karar sayılı Necmettin Erbakan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı ve 221518033 proje no'lu Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün (BAP) desteği ile gerçekleŐtirilmiŐtir.

İhtisasım süresince bana her konuda destek olan öncelikle Prof. Dr. Fatih Keskin hocama, ardından Prof. Dr. Yalçın Kocaoęullar, Prof. Dr. Ahmet Önder Güney, Prof. Dr. Mehmet Fatih Erdi, Doç. Dr. Bülent Kaya, Dr. Öğr. Üyesi Densel Araç ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Kenan hocalarıma teŐekkürlerimi iletmek isterim.

Uzmanlık tezimde yardımları ile yanımda olan Prof. Dr Mehmet Tuęrul Yılmaz, Prof. Dr. Gökhan Cüce ve Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Kılınç hocalarıma teŐekkürü bir borç bilirim.

NöroŐirurji eğitimim boyunca hep desteği ile varlığını hissettiğim sevgili eŐim Tuęba'ya, canım oğlum Alp'e ve biricik kızım Reyhan'a teşekkür ederim.

Hakkımı asla ödeyemeyeceğim sevgili annem Sultan Kaplan ve babam Nihat Kaplan'a ayrıca Őükranlarımı sunarım.

Temmuz, 2023

Dr. Serdar Kaplan

ÖZET

DENEYSEL AKUT SPİNAL KORD HASARINDA MYRICETİN'İN NÖROPROTEKTİF ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

DR SERDAR KAPLAN

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2023

Amaç : Bu projemizde antioksidan özelliklere sahip flavionid polifenolik bileşik sınıfının bir üyesi olan Myricetin'i travmatik spinal kord hasarı oluşturulan ratlara uygulayarak Myricetin'in travma sonrası spinal korddaki serbest radikallere bağlı gelişen sekonder hasara yönelik nöroprotektif etkilerini değerlendirdik.

Yöntem : 45 adet wistar albino cinsi rat her grupta 9 adet olmak üzere 5 gruba ayrılarak randomize edildi. Travmatik spinal kord hasarı titanyum çubuklar vasıtası ile ağırlık düşürme tekniği ile gerçekleştirildi.

Grup-1 (sham) ratlara 1.gün laminektomi yapıldı. 7.gün kan ve doku örnekleri alındı.

Grup-2 ratlara 1.gün laminektomi yapıldı. 7 gün boyunca oral gavaj (OG) ile %0,9 luk serum fizyolojik (SF) verildi. 7.gün kan ve doku örnekleri alındı.

Grup-3 ratlara 1.gün laminektomi yapıldı. Titanyum çubuklar ile spinal travma oluşturuldu. 7 gün boyunca oral gavaj (OG) ile %0,9 luk serum fizyolojik (SF) verildi. 7.gün kan ve doku örnekleri alındı.

Grup-4 ratlara 1.gün laminektomi yapıldı. Titanyum çubuklar ile spinal travma oluşturuldu. 7 gün boyunca oral gavaj (OG) ile düşük doz myricetin (5mg/kg/gün) verildi. 7.gün kan ve doku örnekleri alındı.

Grup-5 ratlara 1.gün laminektomi yapıldı. Titanyum çubuklar ile spinal travma oluşturuldu. 7 gün boyunca oral gavaj (OG) ile yüksek doz myricetin (25mg/kg/gün) verildi. 7.gün kan ve doku örnekleri alındı.

Deneyin 1. ve 7. günlerinde ratların motor muayeneleri için Basso Beattie and Bresnahan (BBB) ve Modifiye Tarlov Skalası testleri uygulandı. Ratlardan elde edilen hasarlı spinal kord dokusu ve kandan interlökin-1beta (IL-1b), interlökin-10 (IL-10), total antioksidan status (TAS), total oksidatif status (TOS), malonildialdehit (MDA) seviyeleri enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile fakültemiz Tıbbi Biyokimya A.D. Araştırma Laboratuvarında çalışılmıştır. Fakültemiz Histoloji ve Embriyoloji A.D. laboratuvarında ratlardan elde edilen spinal kord kesitleri hematoksil-eozin (H-E) boyası kullanılarak histoloji laboratuvarında ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Apoptotik hücreler TUNEL yöntemi ile ApopTag In Situ Apoptosis Detection Kit (Millipore) kullanılarak etiketlenmiştir. TUNEL pozitif hücreler gri maddede 4 mikronluk kesitlerde ışık mikroskobunda 20'lik objektifde sayılarak yüzdeleri alınmıştır. Histopatoloji skoru ve TUNEL pozitif hücre sayısı, TUKEY testi ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak istatistiksel analiz yapılmıştır.

Bulgular : Myricetin, serum ve dokuda dozdan bağımsız olarak IL-10 seviyelerinde artışa sebep oldu. Serum IL-1beta seviyelerinde ilaç dozundan bağımsız düşüş görülürken, doku örneklerinde yüksek doz ilaç grubunda IL-1beta seviyesinde anlamlı düşüş görüldü. Myricetin'in uygulama dozu arttığında daha belirgin antioksidan yanıt oluşturarak TOS seviyesinde düşüşe, TAS seviyesinde yükselişe yol açtığı tespit edildi. Yine Myricetin'in uygulama dozu arttığında oksidatif stresin güçlü belirteçlerinden olan MDA seviyelerinde anlamlı gerilemeye neden olduğu görüldü. Histopatolojik incelemede Myricetin etkisi ile TUNEL pozitif hücre sayısı ve apoptotik indeksin anlamlı olarak azaldığı tespit edildi. Yüksek doz ilaç grubunda diğer deney gruplarına göre en düşük apoptotik indeks tespit edildi. Klinik olarak Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) lokomotor derecelendirme ölçeği ve Modifiye Tarloc Skalası, travma sonrası Myricetin'in nörolojik muayenede iyileşme gösterdiği görüldü.

Sonuç : Elde ettiğimiz biyokimyasal veriler, histopatolojik değerlendirme ve nörolojik muayene sonuçlarına göre Myricetin travma sonrası görülen sekonder spinal kord hasarında antiinflamatuvar, antiapoptotik, antioksidan ve nöroprotektif etki göstermiştir.

Anahtar kelimeler : Deneysel, myricetin, rat, spinal kord, travma

ABSTRACT

MYRICETIN IN EXPERIMENTAL ACUTE SPINAL CORD DAMAGE EVALUATION OF NEUROPROTECTIVE EFFECTS

DR SERDAR KAPLAN

MASTER THESIS

KONYA, 2023

Objective : In this project, we aimed to identify a class of flavonoid polyphenolic compounds with antioxidant properties. By applying Myricetin, which is a member of the family, to rats with traumatic spinal cord injury. Myricetin has a secondary effect on free radicals in the spinalcord after trauma. We evaluated its neuroprotective effects on injury.

Method: 45 Wistar albino rats were randomized into 5 groups, 9 in each group was done. Traumatic spinal cord injury, weight reduction model with titanium rodscarried out.

Group-1 (sham), rats underwent laminectomy. 7th day spinal cord sample, blood and tissue samples were taken.

Group-2, rats underwent laminectomy. 0.9% saline with oral gavage (OG) done. On the 7th day, spinal cord sample, blood and tissue samples were taken.

Group-3, rats underwent laminectomy. Spinal trauma was created with metal rods. With OG 0.9% saline was applied. On the 7th day, spinal cord sample, blood and tissue samples were taken.

Group-4, rats underwent laminectomy. Spinal trauma was created with metal rods. with OG low dose myricetin (5mg/kg/day) was administered. 7th day spinal cord sample, blood and tissue samples were taken.

Group-5 rats underwent laminectomy. Spinal trauma was created with metal rods. With OG high dose myricetin (25mg/kg/day) was administered. 7th day spinal cord sample, blood and tissue samples were taken.

Basso Beattie and Bresnahan (BBB) for motor examinations of the rats on the 1st and 7th days of the experiment and Modified Tarlov tests were applied. Interleukin-1beta (IL1b) from damaged spinal cord tissue and blood obtained from rats, interleukin-10 (IL-10), total antioxidant status (TAS), total oxidative status (TOS), malonyldialdehyde (MDA) levels were determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method our faculty Medical Biochemistry A.D. Worked in the Research Laboratory. Our Faculty Histology and Embryology A.D. spinal cord obtained from rats in the laboratory sections were examined in the histology laboratory using hematoxylin-eosin stain (H-E) examined under the light microscope. Apoptotic cells, ApopTag In Situ Apoptosis Detection Kit by TUNEL method (Millipore). TUNEL positive cells are 4 microns in gray matter. The percentages were taken by counting the sections with a 20 objective lens under the light microscope. Histopathology score and TUNEL positive cell count, one-way variance with TUKEY test statistical analysis was performed using ANOVA.

Results: Myricetin caused an increase in IL-10 levels in serum and tissue independent of dose. While a decrease was observed in serum IL-1 beta levels independent of the drug dose, a significant decrease was observed in IL-1beta levels in the high-dose drug group in tissue samples. It was determined that when the application dose of myricetin increased, it created a more pronounced antioxidant response, causing a decrease in TOS level and an increase in TAS level. Again, when the application dose of Myricetin was increased, it was observed that MDA levels, which are strong markers of oxidative stress, caused a significant regression. In the histopathological examination, it was determined that TUNEL positive cell count and apoptotic index were significantly reduced by the effect of Myricetin. The lowest apoptotic index was determined in the high-dose drug group compared to the other experimental groups. Clinically, Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) locomotor rating scale and Modified Tarloc Scale, post-traumatic Myricetin showed improvement in neurological examination.

Conclusion: In the light of the biochemical, histopathological and neurological examination results we obtained, myricetin has shows anti-inflammatory, antioxidant, antiapoptotic and neuroprotective activity on secondary spinal cord injury.

Keywords : Experimental, myricetin, rat, secondary injury, spinal cord, trauma

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
GRAFİKLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	x
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
TEZ METNİ.....	1
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Spinal Kord Hasarının Tarihçesi.....	2
2.2. Omuriliğin Embriyolojisi.....	2
2.3. Omuriliğin Anatomik Yapısı.....	4
2.4. Spinal Kord Hasarında Etyoloji ve Epidemiyoloji.....	6
2.5. Spinal Kord Hasarında Fiziopatoloji.....	6
2.5.1. Primer Hasar.....	6
2.5.2. Sekonder Hasar.....	7
2.5.2.1. Hemoraji, İskemi ve Reperfüzyon.....	7
2.5.2.2. Nörojenik Şok.....	8
2.5.2.3. Eksitotoksisite.....	9
2.5.2.4. İmmün Aktivasyon Hasarı.....	9
2.5.2.5. Apoptozis.....	10
2.5.2.6. Kalsiyum Aracılı Hasarlanma ve Sıvı-Elektrolit Dengesizliği.....	10
2.6. Myricetin	11
2.6.1. Myricetin'in Moleküler Yapısı.....	11
2.6.2. Myricetin' in Biyoaktivitesi.....	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	14
3.1. Basso Beattie and Bresnahan (BBB) Testi.....	17
3.2. Modifiye Tarlov Skalası.....	19
3.3. İstatistiksel analiz.....	19

4. BULGULAR	24
4.1. Serum Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	24
4.1.1 Serum IL-10 Düzeyleri.....	25
4.1.2 Serum IL-1Beta Düzeyleri.....	26
4.1.3 Serum TAS Düzeyleri.....	27
4.1.4 Serum TOS Düzeyleri.....	28
4.1.5 Serum MDA Düzeyleri.....	29
4.1.6 Serum Biyokimyasal Verilerin Analizi.....	30
4.2. Doku Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	31
4.2.1 Doku IL-10 Düzeyleri.....	32
4.2.2 Doku IL-1Beta Düzeyleri.....	33
4.2.3 Doku TAS Düzeyleri.....	34
4.2.4 Doku TOS Düzeyleri.....	35
4.2.5 Doku MDA Düzeyleri	36
4.2.6 Doku Biyokimyasal Verilerin Analizi.....	37
4.3. Histolojik prosedürler.....	37
4.3.1. TUNEL Methodu ve İstatistiksel Analiz.....	37
4.4. Fiziksel Test Verileri.....	42
4.4.1. Modifiye Tarlov Skalası.....	43
4.4.2. Basso,Beattie and Bresnahan(BBB) testi.....	44
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
KAYNAKLAR.....	51

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik-1: Serum biyokimya verilerinde grup içi IL-10 değerlerinin dağılımı.....	25
Grafik-2: Serum biyokimya verilerinde grup içi IL-1Beta değerlerinin dağılımı.....	26
Grafik-3: Serum biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı.....	27
Grafik-4: Serum biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı.....	28
Grafik-5: Serum biyokimya verilerinde grup içi MDA değerlerinin dağılımı.....	29
Grafik-6: Doku biyokimya verilerinde grup içi IL-10 değerlerinin dağılımı.....	32
Grafik-7: Doku biyokimya verilerinde grup içi IL-1beta değerlerinin dağılımı.....	33
Grafik-8: Doku biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı.....	34
Grafik-9: Doku biyokimya verilerinde grup içi TOS değerlerinin dağılımı.....	35
Grafik-10: Doku biyokimya verilerinde grup içi MDA değerlerinin dağılımı.....	36

TABLolar DİZİNİ

Tablo-1: Basso Beattie and Bresnahan (BBB) Testi.....	18
Tablo-2: Modifiye Tarlov Skalası.....	19
Tablo-3: Serum Biyokimya Verileri.....	24
Tablo-4: Grupların IL-10 Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	25
Tablo-5: Grupların IL-1beta Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	26
Tablo-6: Grupların TAS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	27
Tablo-7: Grupların TOS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	28
Tablo-8: Grupların MDA Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	39
Tablo-9: Doku Biyokimya Verileri.....	31
Tablo-10: Grupların IL-10 Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	32
Tablo-11: Grupların IL-1beta Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	33
Tablo-12: Grupların TAS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	34
Tablo-13: Grupların TOS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	35
Tablo-14: Grupların MDA Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	36
Tablo-15: Gruplar arası Apoptotik indeks Değerlendirilmesi.....	38
Tablo-16: Deney Öncesi (d.ö.) ve Deney Sonrası (d.s.) Fiziksel Test Verileri.....	42

RESİMLER DİZİNİ

Resim-1: Sinir Sistemi'nin embriyolojik kökeni.....	3
Resim-2: Omuriliğin Anatomisi.....	5
Resim-3 : Myricetin' in moleküler yapısı (C ₁₅ H ₁₀ O ₈).....	11
Resim-4: Median vertikal insizyon.....	20
Resim-5: T7 total laminektomi.....	21
Resim-6: Titanyum çubuk bırakılarak spinal kord travması.....	22
Resim-7: İpek sütürler ile cilt kapatılması.....	23
Resim-8: Grup 1'e ait TUNEL pozitif hücreler.....	38
Resim-9: Grup 2'e ait TUNEL pozitif hücreler.....	39
Resim-10: Grup 3'e ait TUNEL pozitif hücreler.....	39
Resim-11: Grup 4'e ait TUNEL pozitif hücreler.....	40
Resim-12: Grup 5'e ait TUNEL pozitif hücreler.....	40
Resim-13: Hematoksilen Eozin boyanmış kesitler.....	41

KISALTMALAR DİZİNİ

AMPA : α -amino 3 hydroxy 5 methylisoxazole 4 propionate

BBB : Basso Beattie and Bresnahan

Ca : kalsiyum

COX : siklooksijenaz

DNA : deoksiribo nükleik asit

ELISA : enzyme linked immunosorbent assay

Fe : demir

GPx : glutatyon peroksidaz

GST : glutatyon S-transferaz

H₂O₂ : hidrojen peroksit

H-E : hemotoksilen eozin

HPLC : yüksek performans likit kromatografi

ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1

IL-1b : interlökin-1beta

IL-10 : interlökin-10

IL-12 : interlökin-12

K : potasyum

MDA : malonildialdehit

Mg : magnezyum

Na : sodyum

NMDA : N-methyl-D-aspartate

OG : oral gavaj

OH : hidroksil

ROS : reactive oxygen species

SF : serum fizyolojik

SPSS : Statistical Package for Social Sciences

SSS : santral sinir sistemi

TAS : total antioksidan status

TBA : tiyobarbitürik asit

TNF : tümör nekrozis faktör

TOS : total oksidan status

TEZ METNİ

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Spinal kord omurga kanalı içinde seyreden vücuttan gelen iletileri beyne beyinden çıkan iletileri vücuda ileten santral sinir sisteminin (SSS) bir parçasıdır. Omurga kemikleri ile muhafaza halinde olduğu halde yüksek enerjili travmalarda hasar prevalansı artmaktadır.

Posttravmatik spinal kord hasarının mortalite ve morbiditesi yüksektir. Günümüzde travmatik spinal kord hasarının en önemli nedeni halen trafik kazalarıdır. (Barbiellini Amidei ve ark, 2022)

Posttravmatik primer spinal kord hasarının cerrahi ve medikal yöntemler ile bilinen bir tedavisi yoktur. Lakin travmadan sonra ilk dakikalarda görülmeyen ve ilerleyen zamanda ortaya çıkan sekonder hasar, tedavi edilebilirse mortalite ve morbidite ciddi bir şekilde azalmaktadır. Posttravmatik sekonder spinal kord hasarının patofizyolojisine baktığımızda, antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik ve nöroprotektif etkinlik gösteren Myricetin molekülüne, kan-beyin bariyerini de geçmesi sebebi ile çalışmamızda yer verilmiştir. (Song Zhang ve ark)

Deneyimizde 5 grup halinde toplam 45 adet rat kullanıldı. Grup-3, grup-4 ve grup-5 e titanyum çubuklar ile spinal hasar oluşturuldu. Grup-4 ve grup-5 e oral gavaj ile yüksek ve düşük doz Myricetin verildi. 7 gün sonra hasarlı kord bölgesi biyokimya ve histoloji laboratuvarlarında çalışılmak üzere çıkartıldı. Deney sonrası ratlar intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edildi. Alınan kan ve doku örneklerinde Myricetin'in antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik ve nöroprotektif etkileri gözlemlendi.

Bu projenin amacı; Myricetin'in posttravmatik spinal kord hasarı üzerindeki etkilerini inceleyip bu hususta yapılacak sonraki bilimsel çalışmalara ışık tutmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spinal Kord Hasarının Tarihçesi

Spinal kord hasarı ile ilgili en eski yazılı kaynaklar M.Ö. 3500-2000 yıllarında Mısırlılar'a dek uzanmaktadır. M.Ö. 460-375 yılları arasında yaşamış olan Hippocrates, spinal dislokasyonlarda redüksiyon için özel bir traksiyon masası kullanmıştır. Eczacılığın babası olarak bilinen Galen, omuriliğin anatomik fizyolojik fonksiyonları üzerine deneyler yapmış ve mikroskopik anatomi üzerine tanımlamalar yapmış, duramater ve piamateri tarif etmiştir. Ayrıca kifoz, lordoz, skolyoz gibi tanımlamaları yine Galen yapmıştır. (Büyükkıncı ve ark.)

M.S. 625-690 yılları arasında yaşamış olan Paulus, spinal fraktür sonrası laminektomi yaparak posterior dekompresyon sağlayan ilk hekimdir. Ayrıca redüksiyon ve stabilizasyon için tasarladığı ortezler günümüzde kullanılanlara öncülük etmiştir. (Büyükkıncı ve ark.)

Benedict Stilling ilk kez spinal kordu seri kesitler üzerinde 1842'de çalışmıştır. Marshal Hail ilk kez spinal şok terimini 1850'de kullanmıştır. (Koehler ve ark 1992)

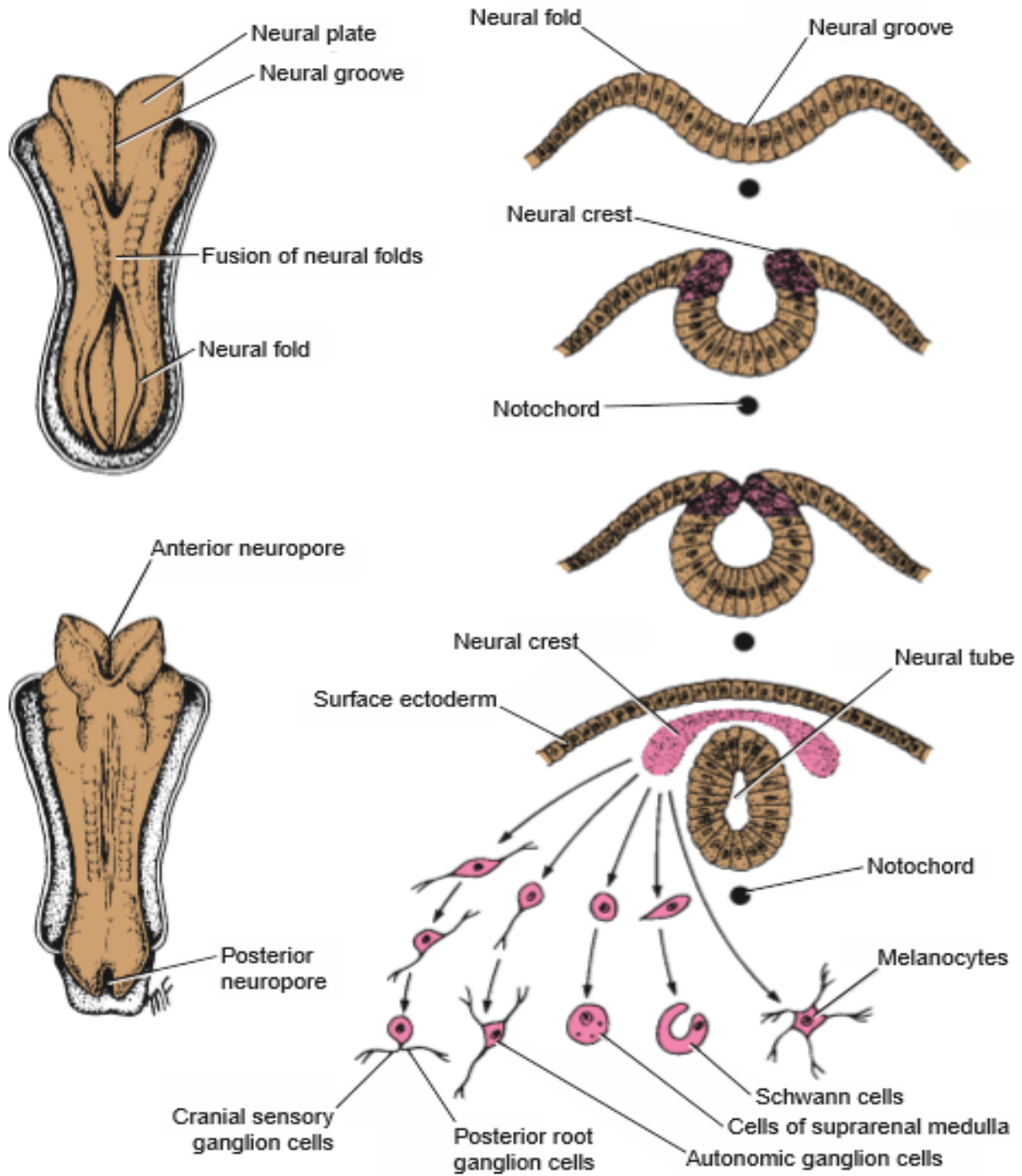
Allen 1911' de laminektomi sonrası spinal kordun üzerine ağırlık düşürme testini tanımlamıştır. Bu test deney hayvanları üzerinde primer ve sekonder hasar üzerine çalışma yapılabilmesini sağlamıştır. (Ruifeng Yang ve ark)

2.2. Omuriliğin Embriyolojisi

Sinir sisteminin tamamı ektodermden kaynaklanır. Nörülasyon, nöral plağın nöral tüpe dönüşme sürecidir ve 28. gün kaudal nöroporun kapanması ile sonlanır. Notokord oluşturduğu nörostimülanlar nedeni ile nöral oluğun ve sonrasında nöral tüpün oluşmasında önemlidir. Nöral tüpün geniş olan kranial bölgesinden beyin kesecikleri dar olan kaudal bölgesinden ise medulla spinalis gelişir. (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019)

İlk somit çifti, 20. günde embriyonun servikal bölgesinde oluşur ve kraniokaudal yönde ilerleyerek 5. haftanın sonuna kadar her gün 3 çift olmak üzere 42 – 44 çift oluşur. Medulla spinalis 4. çift somitin kaudalinde kalan nöral tüpten gelişir. 9. ve 10. haftalarda nöral tüpün duvarları kalınlaşır ve genişliği küçülerek santral kanalı oluşturur.

6. ve 9. haftalarda nöroepitel hücrelerin çoğalmasıyla medulla spinalis duvarı kalınlaşır, tavan ve taban plakları incelikir. Kalınlaşan duvarlarda iki tarafta sulcus limitans adı verilen sığ longitudinal oluk oluşur. Bu oluk dorsal kısımda alar plağı ventral kısımda bazal plağı oluşturur. (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019)



Resim-1: Sinir Sistemi'nin embriyolojik kökeni

Nöral plak, nöral oluk ve nöral tüp oluşumu. Nöral krest hücreleri posterior root ganglion hücrelerine, kraniyel sinirlerin duyu ganglionlarına, otonomik ganglionlara, nörolemmal hücrelerine (Schwann hücrelerine), suprarenal medulla hücrelerine ve melanositlere farklılaşır. (Necdet Ersöz, Ekim 2015, Gazi Üni. Tıp Fak.)

Spinal ganglionları meydana getiren hücreler T biçiminde unipolar nöronlar nöral krestten oluşurlar. Nöronların her iki uzantısı aksonal özellik gösterir fakat periferik uzantıda sinyal hücre gövdesine iletiildiği için dentrit olarak görev yapmaktadır. Periferik uzantılar spinal sinirlere doğru ilerleyerek duysal sonlanmalar yaparlar. Santral uzantılar ise spinal sinirlerin dorsal köklerinden medulla spinalise girer.

2.3. Omuriliğin Anatomik Yapısı

Omurilik, vertebral kemiklerin ortasında bulunan canalis vertebralis içerisinde yerleşmiştir ve 1. ve 2. lomber vertebra (L1-L2) seviyesinde sonlanır. Medulla spinalisin uzunluğu ortalama 43-45 cm, kütlesi 27-30 gr civarındadır. (Ersoy 1996, Erzurumlu 2019)

Omurilik, beyinde olduğu gibi en içte piamater sonra araknoidmater ve en dışta duramater ile sarılmıştır. Ligamentum denticulatum'lar piamater ile duramater arasındaki bağlantılardır. Omuriliğin alt ucuna conus medullaris denir. Bu seviyeden sonra cauda equina lifleri devam ederek segmental olarak nöral foramenlerden çıkar. (Erzurumlu ve ark 2019)

Omuriliğin ön yüzünde fissura mediana anterior, arka yüzünde sulcus medianus posterior adında iki oluk bulunur. Ön kökler anterolateralde bulunan sulcus lateralis anteriordan, arka kökler posterolateralde bulunan sulcus lateralis posteriorda medulla spinalise dahil olur. (Netter 2007)

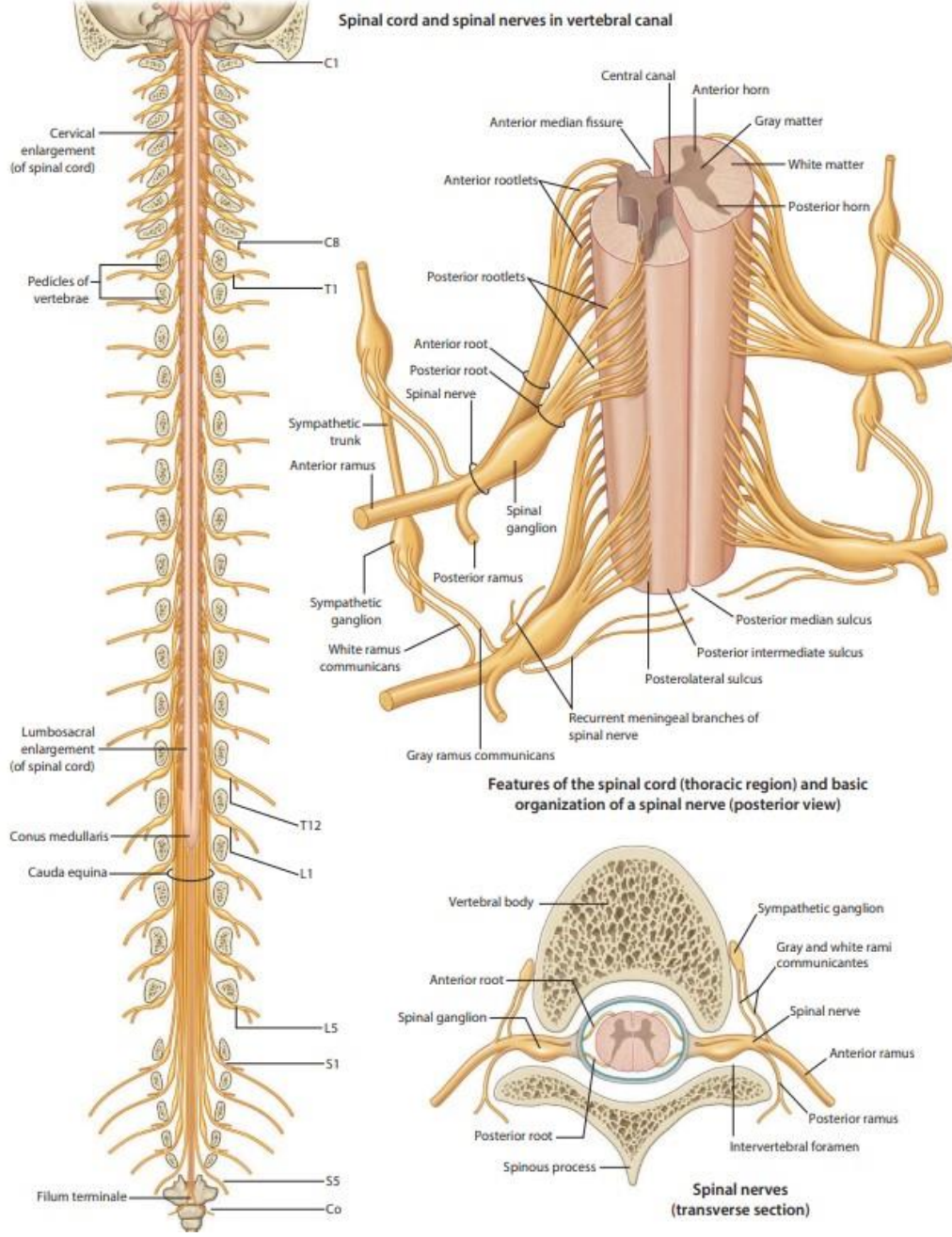
Medulla spinaliste makroskopik olarak ayırt edilebililen gri ve beyaz cevher bulunur. Gri cevherde nöron gövdeleri ve dentritler bulunur. Cornu anterius gri cevherde öne doğru çıkıntı yapan boynuzsu yapılardır. Cornu posterius ise arkaya çıkıntı yapan uzantılardır.

Gri cevherin ortasında canalis centralis bulunur, ependim hücreleri ile döşelidir ve burada beyin-omurilik sıvısı (BOS) bulunur.

Beyaz cevherde inen ve çıkan nöron aksonları, nöroglialar ve vasküler yapılar bulunur. Miyelin kılıf açısından oldukça zengin olduğu için beyaz renkli görülür. Beyaz cevherdeki kısa yolaklar gri cevhere yakın seyrederken uzun yolaklar (traktus) gri cevhere uzak seyredir. (Netter 2007)

Medulla spinalisin beslenmesi vertebral arterin dalları olan, anterior spinal arter (1 adet), posterior spinal arter (2 adet) ve radiküler arterler ile sağlanır. Anterior spinal arter, fissura mediana anteriorda ilerleyerek cauda equina'ya kadar uzanır. Radiküler arterlerin en büyüğü Adamkiewicz arteri (arteria radikuleris magna) olup, T9-L2 vertebra segmentlerinde medulla spinalisin ön tarafını besler. (Zhang ve ark 1995)

Medulla spinalis venleri de arterlere paralellik gösterir. Üst segmentlerin drenajı vena jugularis interna ve vena cava superior'a olurken, alt segmentlerin drenajı vena cava inferior'a olmaktadır. (Zhang ve ark 1995)



Resim-2: Omuriliğin Anatomisi (Gray's Atlas of Anatomy, 2nd Education)

2.4. Spinal Kord Hasarında Etyoloji ve Epidemiyoloji

Barbiellini Amidei ve ark yaptıkları bir retrospektif çalışmada geçtiğimiz on yılda yaş-cinsiyete göre standardize edilmiş spinal kord hasarı insidans oranlarını 1.000.000 kişi başına 26,5 vaka olarak (ortalama yaş 59) tespit etmişler ve vakaların çoğunun erkek (%68,3) olduğu bildirilmiştir. İnsidans doğrudan yaşla ilişkiliyken erkek/kadın oranı ters orantılıydı. Spinal kord hasarı hastalarının çoğunu servikal travmalar (%52,1) oluştururken en sık görülen yaralanma nedeni trafik kazaları (%29,9) ve bunu iş kazaları (%29,8) izlemiştir. Ölüm oranlarının servikal travmalar için daha yüksek olduğu ve yaşla birlikte arttığı tespit edilmiştir.. Bir aylık mortalite riski 75 yaş üstü yaş grubunda 55 yaş altı ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. (Barbiellini Amidei ve ark, 2022)

Lezyonun seviyesi lezyonun komplet veya inkomplet olup olmadığı başlangıçtaki parezinin derecesi gibi faktörler prognoz açısından oldukça önemlidir (Ditunno ve ark. 2002)

Spinal kord yaralanması tedavisindeki gelişmelere rağmen genitoüriner sistem, solunum sistem komplikasyonları ve dermatolojik hastalıkları (basınç ülserleri dahil) ile ilişkili durumlarda artan insidansla birlikte yeniden hastaneye yatış oranları yüksek kalmaktadır. Akut spinal kord yaralanmalı hastaların morbiditeyi ve yeniden hastaneye yatışları azaltmak için yakın takibe ihtiyaçları olduğu bildirilmiştir. (Cardenas DD ve ark, 2004)

2.5. Spinal Kord Hasarında Fizyopatoloji

2.5.1. Primer Hasar

Primer yaralanmada karakteristik 4 adet mekanizma vardır;

a) travma ve kalıcı kompresyon : İlk ve en yaygın mekanizmadır. Omuriliğe baskı yapan kemik fragmanlar, akut disk hernileri burst fraktürlerinde belirgindir.

b) geçici kompresyon : Travma zemininde eşlik eden başka bir omurga hastalığı olan hastalarda hiperekstansiyon yaralanmalarında gözlenir.

c) distraksiyon : Spinal kordun vertikal düzlemde gerilmesidir. Bu da spinal kord perfüzyonunu ciddi anlamda bozmaktadır. Bu mekanizma kas sistemi ve ligamanların gevşek olduğu pediatrik yaş grubunda daha sık görülür.

d) transeksiyon/laserasyon : Travma ile oluşan serbest kemik fragmanları spinal kordda laserasyona sebep olabilir. Lokal laserasyondan tam transeksiyona kadar tablo değişebilir. (Randall ve ark 2001)

Mekanik etkenler ilk olarak gri cevhere zarar verir. Bunun nedeni yumuşak kıvamlı ve vasküler yapıların fazlalığıdır. Posttravmatik hemoraji erken dönemde görülür. Perfüzyonun bozulması, hipoksi ve iskemiye yol açarak lokal enfarktüs ile sonuçlanır. Ayrıca hemorajiye bağlı ödem sonrası sinir iletisi bozulmaktadır. (Lapchak ve ark 2001)

2.5.2. Sekonder Hasar

Primer hasar mekanizmalarının uzaması halinde sekonder hasar mekanizmaları oluşmaya başlar.

2.5.2.1. Hemoraji, İskemi ve Reperfüzyon

Travma bölgesindeki mikrosirkülasyonun bozulması ile hemorajik nekroz belirginleşmeye başlar. Devamında oluşan iskemi ise özellikle kapiller ve venüllerdeki kan akımı azlığının sonucu ortaya çıkar.

Oluşan hipoperfüzyonun ardından laktat gibi asidik metabolitlerin aşırı birikmesi ile perivasküler pH azalır ve savunma mekanizmalarının uyarılması ile aşırı perfüzyon hali görülür. (Koyanagi ve ark 1993)

Reperfüzyon aşamasında oluşan serbest radikaller mevcut hasarı daha da şiddetlendirir. Erken reperfüzyon döneminde süperoksit, hidroksil radikalleri, nikrik oksit gibi oksijen türevi serbest radikaller en belirgin artış gösterenlerdir. Oluşan oksidatif stres koruyucu hücresel antioksidan kapasiteyi aştığında, bu reaktif moleküller proteinlerin, lipidlerin ve nükleik asitlerin oksidasyonuna neden olur. Bu durum, serbest radikallerin gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenazı, Na-K ATPazı, mitokondrial enzimleri ve Na membran kanallarını inhibe etmesi ile oluşmaktadır. (Cuzzocrea ve ark 2001)

Total Oksidatif Status (TOS) : Serum veya plazmada bulunan farklı oksidan türlerinin toplamıdır. Erel Özcan tarafından geliştirilmiş tam otomatik kalorimetrik bir yöntemdir. Numuneden bulunan oksidan bileşikler, ferröz iyon-odanisidine kompleksini ferrik iyona oksitlerler. Eklenen gliserol reaksiyon hızını yaklaşık üç katına çıkarır. Asidik ortamda xyleneol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Numunede bulunan oksidan bileşiklerin miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (Erel Ö. 2005)

Total Antioksidan Status (TAS): Erel Ö. tarafından geliştirilmiş tam otomatik bir yöntem olup güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçer. Bu yöntemde Fe²⁺-O-dianisidin kompleksi hidrojen peroksid ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen materyali düşük pH'da renksiz o-dianisidin molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidil radikallerini oluşturur. Dianisidil radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artırır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdururlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir. (Erel Ö. 2005)

Malonildialdehit (MDA) : MDA ölçümü lipid peroksidasyonunun derecesinin belirlenmesi için en sık başvuru olan testtir. MDA ölçümü en yaygın olarak tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemiyle yapılır. Serbest MDA'nın direkt tayini en güvenilir şekilde yüksek performans likit kromatografisi (HPLC) yöntemiyle yapılır. HPLC çok hassas ve hızlı bir metottur ve az numune gerektirir.

İnterlökin-1beta (IL-1β) : IL-1, mononükleer fagositlerden salgılanan 2 temel polipeptidten oluşur. Bunlardan biri IL-1 alfa diğeri IL-1 beta'dır. Dolaşımdaki IL-1 aktivitesinin çoğu IL-1β'dır. Düşük yoğunlukta bölgesel inflamatuvar olaylara aracılık eder. Endotel hücrelerine etkiyle pıhtılaşmayı artırır. Lökositlerin birbirlerine yapışmasına aracılık eden yüzey moleküllerinin ekspresyonunu artırır. Mononükleer ve endotel hücrelerine etki ederek lökositleri aktive eden kemokinlerin sentezine neden olur.

İnterlökin-10 (IL-10) : CD4⁺ yardımcı hücrelerinin TH2 alt grubu tarafından üretilir. IL-10'un iki önemli etkisi vardır. Birincisi; makrofajlar tarafından sitokinlerin (örn: TNF, IL-1, IL-12, kemokin) üretimini engellemek ikincisi ise makrofajların T hücresi aktivasyonundaki işlevlerini engellemektir. Bu ikinci etkiyi class II MHC moleküllerinin ve bazı ko-stimulatörlerin ekspresyonunu azaltarak yapar. Bu etkilerin sonucunda T hücresi aracılığı ile gelişen immün yanıt inhibe edilir. Makrofajlar üzerine inhibitör etkilerine ek olarak IL-10'un B lenfositleri üzerine uyarıcı etkileri vardır.

2.5.2.2. Nörojenik Şok

Vazomotor nöron paralizisi vazodilatasyona neden olur ve bu durum perfüzyonu bozar. Ayrıca mikrodolaşımdaki vazodilatasyon/vazokonstrüksiyon dengesinin bozulması sonucu vagal tonus artar ve bu da miyokard depresyonuna neden olur. Miyokard fonksiyon bozukluğu perfüzyonu daha da bozar. (Guha ve ark 1989)

2.5.2.3. Eksitotoksisite

SSS'in ana uyarıcı nörotransmitteri olan Glutamat hasardan sonra aşırı salınır. Bu durum mikrosirkülasyonu bozar ve serbest radikallerin oluşumu artırır. Glutamat hücre reseptörü aktivasyonu özellikle N-methyl-D-aspartate (NMDA) ve α -amino 3 hydroxy 5 methylisoxazole 4 propionate (AMPA) iskemik hasarda kritik rol oynar. (Koyanagi ve ark 1993, Von Euler 1997)

“Eksitotoksisite” terimi ilk kez Olney tarafından kullanılmış ve glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonu ile nöronal hasarı tanımlanmıştır. (Olney 1994)

Glutamat reseptörü aktivasyonu daha sonra sitotoksik ödem ve hücre içi asidoz oluşumuna neden olan hücre içi sodyumun erken birikmesine neden olur. Na^+ K^+ ATP'azın inhibe olması hücre içinde sodyum ve su birikimini ve hücre dışına potasyum kaybını şiddetlendirir.

Eksitotoksisite (özellikle NMDA reseptör tarafından aracılık edilir) lipid peroksidasyonunun başlatılması, Na^+ K^+ ATP'az aktivitesinin inhibisyonu, membran sodyum kanallarının etkisizleştirilmesi, mitokondriyal enzimlerinin doğrudan inhibisyonu, gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenazın etkisizleştirilmesi vasıtasıyla nöronal ölüme katkıda bulunan reaktif moleküllerin ortaya çıkmasına neden olur. (Beckman 1994)

2.5.2.4. İmmün Aktivasyon Hasarı

Spinal kord hasarının ardından glial hücrelerin hücre kalıntıları giderme esnasında bazı oksidatif ve lizozomal enzimleri aktive ettiği görülmüştür. Spinal kord hasarı sonrası 2 fazlı lökosit yanıtı vardır. İlk başta nötrofil hakimiyeti görülür. Daha sonra hasarlı hücrelerin fagositozu için makrofaj aktivasyonu görülür (Schwab ve ark 1996).

Bahsi geçen 2 fazlı yanıtın primer hasardan sonraki 24 saat içinde başladığı ve dejenere aksonların demiyelinizasyonuna katkı sağladığı düşünülmektedir (Rhoney ve ark 1996). İmmünitede görevli olan bu hücrelerin hasarlı dokuya alımı ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) tarafından yönetilir. ICAM-1, nötrofillerin dokuya infiltrasyonunu indükler.

Spinal kord hasarından sonra ICAM-1 e karşı gelişen özel bir monoklonal antikorun miyeloperoksidazı ciddi şekilde inhibe ettiği, ödemi azalttığı ve spinal kan akımını düzelttiği görülmüştür (Hamada ve ark 1996). Ayrıca IL-10 un TNF-alfa üretimini azalttığı ve monosit gibi immün hücreleri inhibe ettiği görülmüştür (Brewer ve ark 1999).

2.5.2.5. Apoptozis

Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarda özellikle kaspaz aktivasyonu ile apoptozisin sekonder spinal kord hasarında ciddi rol oynadığı gösterilmiştir (Arnold ve ark 2000).

Spinal kord hasarı sonrası nöronlardaki apoptozis makrofajların aracılık ettiği ekstrinsik (reseptör bağımlı) ve doğrudan kaspaz-3 proenzim aktivasyonu ile mitokondrial hasarın olduğu intrinsik (reseptör bağımsız) yollar ile olmaktadır. Ayrıca bazı çalışmalarda kaspaz inhibitörlerinin apoptozisi engelleyerek sekonder hasarın progresyonunu engellediği gösterilmiştir (Li M ve ark 2000). Ekstrinsik yolda en güçlü sinyali TNF-alfa üretir.

İntrinsik yolda hücre içi sinyaller tarafından indüklenir. Burada nöron içinde biriken yüksek Ca seviyesi mitokondrial hasara, sitokrom-c salınımına ve kaspaz-9 aktivasyonu ile apoptozisin başlamasına neden olur (Eldadah ve ark 2000)

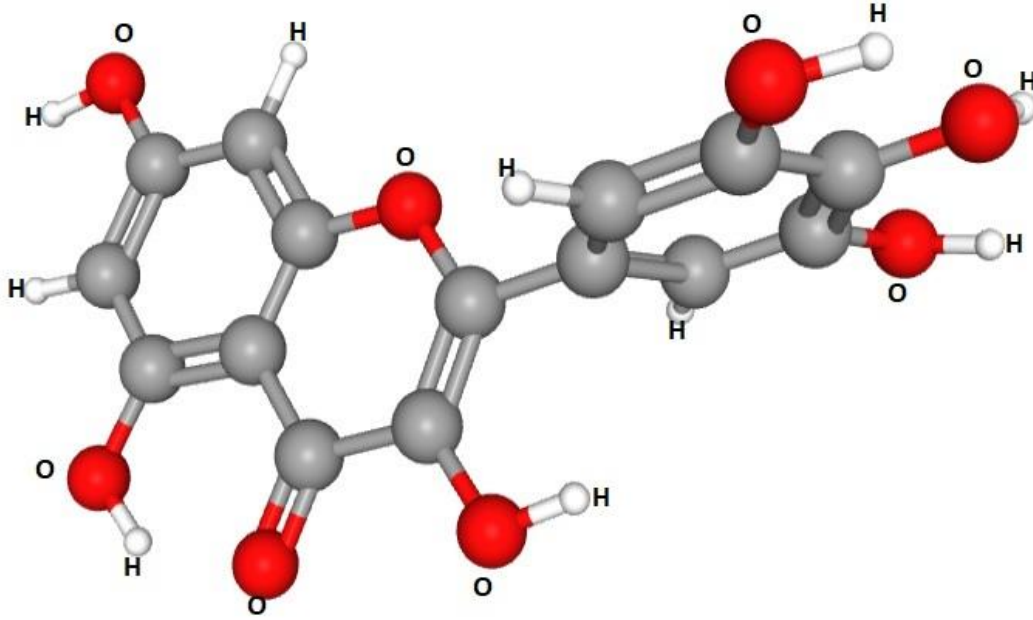
2.5.2.6. Kalsiyum Aracılı Hasarlanma ve Sıvı-Elektrolit Dengesizliği

Hücre içi yüksek Ca seviyesinin apoptozisi başlatmasında bilinen en önemli mekanizma mitokondrial hasar, sitokrom-c salınımı ve kaspaz-9 aktivasyonudur. Yükselen hücre içi Ca calpain, fosfolipaz-A2, siklooksijenaz ve lipooksijenazları uyarır (Bracken ve ark 1997). Ayrıca artan calpain akson ve myelin kılıfın önemli yapısal proteinlerinin yapısını bozar. Ca ile aktivitesi artan lipaz, lipooksijenaz ve siklooksijenazlar (COX); araşidonik asidi tromboksana, prostaglandine ve lökotriene dönüştürür. Oluşan bu bileşikler, trombosit agregasyonuna ve vazokonstriksiyona neden olarak hasarı daha da artırır (Schwab ve ark 2000).

Spinal kord hasarı sonrası hücre dışında artan K nöronal iletimi bozar ve nöronun aşırı depolarizasyonuna neden olur. Ayrıca aşırı miktarda Mg hücre dışına çıkar ve hücre içi Mg seviyesinde ciddi azalma olur. Bu da glikoliz ve oksidatif fosforilasyonda görevli ve Mg' u kofaktör olarak kullanan birçok enzimin inhibe olması demektir (Rhoney ve ark 1996)

2.6. Myricetin

2.6.1. Myricetin'in Moleküler Yapısı



Resim-3 : Myricetin' in moleküler yapısı (C₁₅H₁₀O₈)

Myricetin, antioksidan özelliği olan doğal olarak oluşan bir flavonoldür. Orta derecede membran geçirgenliği gösterir ve yüksek pH'ta hızla bozular. Myricetin, yenilebilir bitkilerde bulunan başlıca flavonoidlerden biridir ve antikanserojenik ve antimutajenik işlevselliğe sahiptir. İki benzen halkası A ve B'den oluşur. B halkası, nükleotit istifleme ile araya girer ve bakteriyel DNA sentezini inhibe eder. Myricetin, diyabetik sıçanda tert-bütillhidroperoksit (t-BHP) tarafından üretilen oksidatif strese karşı koruyucu işlevi ortaya çıkarır ve glutatyon peroksidaz (GPx) ve ksantin oksidaz (XO) enzim aktivitesini geliştirir. Düşük yoğunluklu lipoprotein glikasyonunu da azaltır (Yasaman T ve ark 2020).

Yaygın beslenme kaynakları arasında; sebzeler (domates dahil), meyveler (portakallar dahil), fındık, çilek, çay ve kırmızı şarap bulunur. Aynı zamanda bal, myricetin başta olmak üzere bir flavonoid kaynağıdır (Yasaman T ve ark 2020).

Myricetin yapısal olarak fisetin, luteolin ve quercetin'e benzer. Günde bildirilen ortalama myricetin alımı diyetle bağlı olarak değişir, ortalama 23 mg/gün olarak gösterilmiştir.

Myricetin, dihidromyricetin ara ürünü aracılığıyla ana bileşik taksifolinden üretilir. Dihidromyricetin kısmi bir GABA-A reseptör agonisti ve Alkol Kullanım Bozukluğunda (AKB) tedavide kullanılmaktadır. Myricetin alternatif olarak doğrudan başka bir flavonol olan kaempferolden üretilir.

2.6.2. Myricetin' in Biyokaktivitesi

Direkt olarak peroksil ve hidroksil uzaklaştırıcı etki ile iskemi reperfüzyon süresince gelişen oksidatif stresi azaltmada aracılık edebilecekleri bildirilmiştir (Huk I ve ark 1998). Serbest radikal uzaklaştırıcı (antioksidan), antitrombotik, antihipertansif, antialerjik, antienflamatuar, antiapoptotik ve son zamanlarda da antikanserojen aktiviteleri gösterilmiştir (Yasaman T ve ark 2020).

Etki mekanizmasını daha ayrıntılı bir şekilde ele alırsak ; OH, O₂⁻ ve H₂O₂ gibi ROS (reactive oxygen species), hücrel metabolizma süreçleri (aerobik solunum) sırasında üretilir. ROS lipidlere, DNA'ya ve proteinlere zarar verebilir. Bu tür bir hasarın kademeli ancak istikrarlı bir şekilde artması, tromboz, diyabet, kalıcı iltihaplanma, kanser ve ateroskleroz dahil olmak üzere birçok hastalık ve durumun gelişmesine yol açabilir. Myricetin dahil olmak üzere flavonoidler, ROS'u temizleyebilir ve sonuçta ROS üreten hücre içi geçiş metali iyonlarını şelatlayabilir. Myricetin ayrıca diğer antioksidanların etkilerini de artırır. Myricetin, glutatyon S-transferaz (GST) enzimini indükleyebilir. GST'nin hücreleri serbest radikallere karşı koruyarak oksidatif strese karşı koruduğu öne sürülmüştür. İn vitro çalışmalar, Myricetin'in GST aktivitesini önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. ROS (reactive oxygen species) oluşumunu engelleyerek antioksidan etkilerini gösterebilir, ROS'u direkt olarak uzaklaştırabilir, indirekt olarak hücrelerin antioksidan enzimlerini artırma ve lipofilik antioksidanları koruma yoluyla fonksiyon yapar (Yamazaki ve ark 2008).

Myricetin'in prelinik immünomodülatör özellikleri artık giderek daha fazla tanınmaktadır. Myricetin'in ratlarda immobilize edilmiş anti-CD3 ve anti-CD28 monoklonal antikörlara bağlanarak T-lenfosit stimülasyonunu önleyebileceği bildirilmiştir.. Bu çalışmada açıklanan Myricetin'in T hücreleri üzerindeki inhibitör etkisinin hücre dışı H₂O₂ üretimi aracılığıyla yaptığı bildirilmiştir. (Li Y ve Ding Y, 2012)

Myricetin'in nöronları oksidatif stresörlere karşı korumada etkili olduğu da gösterilmiştir. Araştırmacılar oksidatif stresör olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) ile tedavi edilen PC12 hücrelerinin apoptoz nedeniyle hücre ölümü yaşadığını göstermiştir. Myricetin ile tedavi edildiğinde oksidatif olarak strese giren bu hücreler, istatistiksel olarak önemli ölçüde artan hücre sağkalımı sergilemiştir. Myricetin'in yalnızca oksijen radikali temizleme yeteneklerine sahip olmadığı aynı zamanda doğal spesifik hücre hayatta kalma kapasitelerine de sahip olduğu öne sürülmüştür. Oksijen radikali temizleme özelliğiyle bilinen diğer moleküller (E vitamini ve boldin), hücre modellerini oksidatif strese ve nihai hücre ölümüne karşı Myricetin ve diğer biyokimyasal olarak ilgili moleküller kadar etkili bir şekilde koruyamadığı bildirilmiştir. (Dajas F ve Rivera-Megret, 2003)

Myricetin'in anti-enflamatuar özelliği iltihaplanma sırasında ortaya çıkan artmış sitokin üretimini engelleme kabiliyetinde yatmaktadır. Çeşitli makrofaj hücreleri ve insan sinoviyal hücreleri üzerinde yapılan testler, transkripsiyon faktörlerinin ve araçların aşağı regülasyonu yoluyla interlökin-12 ve interlökin-1 β gibi çeşitli sitokin türlerinin inhibisyonunu göstermiştir. (Gupta SC, Tyagi AK ve ark. 2014)

Myricetin gibi polifenoller oksidatif stres kaynaklı trombosit aktivasyonunu önleyebilir. Peroksit radikallerini nötralize ederek koruma sağlamanın ve tromboksan üretimini etkilemenin yanı sıra Myricetin gibi polifenoller diğer trombosit aktivasyon yollarını hedefleyerek fibrinojenin trombosit yüzey reseptörlerine bağlanma yeteneğini sınırlayabilir. (Santhakumar AB, Bulmer AC, Singh I, 2013)

Myricetin'in moloney murin lösemi virüsü, Rauscher murin lösemi virüsü ve insan immün yetmezlik virüsü dahil olmak üzere bir dizi virüse karşı antiviral aktivite gösterdiği görülmüştür. Virüslerin çoğalmasına karşı etkilerinin Myricetin'in ters transkriptazın düzgün çalışmasını engelleme yeteneğinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Myricetin, Rauscher murin lösemi virüsünün ters transkriptazının rekabetçi bir inhibitörü ve insan immün yetmezlik virüsüne göre kısmi bir rakip olarak tanımlandı. Gözlenen antiviral etkilere sahip Myricetin ve diğer flavonoidlerin yapısal analizi, inhibisyondan muhtemelen 3,4' serbest hidroksil gruplarının sorumlu olduğunu göstermektedir. (Ong KC, Khoo HE, 1997)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Gerçekleştirdiğimiz bu proje, 13/04/2022 tarih ve 2022-017 karar numaralı Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Uygulama ve Merkezi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurul onayı ve 221518033 proje numaralı Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün desteği alınıp, Nisan 2023'te Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde uygulanmıştır.

Deneyde kullandığımız 45 adet Wistar Albino cinsi dişi rat aynı merkezden temin edilmiştir. Deney sonucu elde edilen kan ve spinal kord doku örnekleri Üniversitemiz Tıbbi Biyokimya A.D. laboratuvarında çalışılmıştır. Yine elde edilen spinal kord örnekleri histopatolojik inceleme için Üniversitemiz Histoloji ve Embriyoloji A.D. laboratuvarında incelenmiştir.

45 adet, 200-300 mg ağırlığında albino wistar cinsi dişi rat randomize olarak her biri 9 rat içeren 5 gruba ayrıldı;

Grup-1 (n:9) Ratlara 1.ve 7. günde Basso Beattie and Bresnahan(BBB) ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. Ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral paraspinal adeleler laretalize edilip laminalar gösterildi. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. 7.gün T7-9 arası spinal kord eksize edildikten sonra intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan numunesi biyokimyasal incelemede kullanıldı. Çıkarılan spinal kord horizontal olarak eksize edildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içine konularak histopatolojik incelemeye yollandı. Diğer yarısı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 santigrad derecede saklandı.

Grup-2 (n:9) Ratlara 1. ve 7. günde Basso Beattie and Bresnahan(BBB) ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. Ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral spinal paraspinal laretalize edilip laminalar gösterildi. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. Rat halen anestezi altındayken supin pozisyona getirilerek oral gavaj ile 0.5cc/kg/gün %0,9 luk SF uygulandı.

7. gün sonunda ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edilerek T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan numunesi biyokimyasal incelemede kullanıldı. Çıkarılan spinal kord horizontal olarak eksize edildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içine konularak histopatolojik incelemeye yollandı. Diğer yarısı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecede saklandı.

Grup-3 (n:9) Ratlara 1. ve 7. günde Basso Beattie and Bresnahan(BBB) ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. Ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral spinal paraspinal laretalize edilip laminalar gösterildi. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. Ardından yüksekliği 5 cm ve çapı 10 mm olan metal tüp yerleştirilerek tüpün içinden ağırlığı 5 g, çapı 9 mm olan titanyum çubuk bırakılarak spinal kord travması oluşturuldu. İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Rat halen anestezi altındayken supin pozisyona getirilerek oral gavaj ile 0.5cc/kg/gün %0,9 luk SF uygulandı. 7. gün sonunda ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildi. Hemen arkasından ipek sütürler alınarak T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan numunesi biyokimyasal incelemede kullanıldı. Çıkarılan hasarlı spinal kord horizontal olarak eksize edildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içine konularak histopatolojik incelemeye yollandı. Diğer yarısı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecede saklandı.

Grup-4 (n:9) Ratlara 1. ve 7. günde Basso Beattie and Bresnahan(BBB) ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. Ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral spinal paraspinal laretalize edilip laminalar gösterildi. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. Ardından yüksekliği 5 cm ve çapı 10 mm olan metal tüp yerleştirilerek tüpün içinden ağırlığı 5 g, çapı 9 mm olan titanyum çubuk bırakılarak spinal kord travması oluşturuldu. İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Rat halen anestezi altındayken supin pozisyona getirildikten sonra oral gavaj ile 5mg/kg/gün Myricetin 7gün boyunca uygulandı(total doz 126mg).

7. gün sonunda ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildi. Hemen arkasından ipek sütüler alınarak T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan numunesi biyokimyasal incelemede kullanıldı. Çıkarılan hasarlı spinal kord horizontal olarak eksize edildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içine konularak histopatolojik incelemeye yollandı. Diğer yarısı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecede saklandı.

Grup-5 (n:9) Ratlara 1. ve 7. günde Basso Beattie and Bresnahan(BBB) ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. Ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral spinal paraspinal laretalize edilip laminalar gösterildi. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. Ardından yüksekliği 5 cm ve çapı 10 mm olan metal tüp yerleştirilerek tüpün içinden ağırlığı 5 g, çapı 9 mm olan titanyum çubuk bırakılarak spinal kord travması oluşturuldu. İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Rat halen anestezi altındayken supin pozisyona getirildikten sonra oral gavaj ile 25mg/kg/gün Myricetin 7gün boyunca uygulandı (total doz 630mg). 7. gün sonunda ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildi. Hemen arkasından ipek sütüler alınarak T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan numunesi biyokimyasal incelemede kullanıldı. Çıkarılan hasarlı spinal kord horizontal olarak eksize edildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içine konularak histopatolojik incelemeye yollandı. Diğer yarısı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecede saklandı.

Ratlardan elde edilen hasarlı spinal kord dokusu ve kandan interlökin-1beta, interlökin-10, TAS (total antioksidan status), TOS (total oksidatif stres), MDA (malonildialdehit) seviyeleri enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile Tıbbi Biyokimya AD Araştırma Laboratuvarında çalışıldı.

Fakültemiz Histoloji ve Embriyoloji A.D laboratuvarında ratlardan elde edilen spinal kord kesitleri hematoksilin eozin boyası kullanılarak histoloji laboratuvarında ışık mikroskobu altında incelendi.

Spinal kordun tüm örneklerinde, histopatolojik değişikliklerin sınıflandırılmasında 0 ve 3 arasında değişen skorlama sistemi kullanıldı. 6 farklı parametre (yangı, hemoraji, aksonal şişme, konjesyon, nöron dejenerasyonu ve vakuol) değerlendirildi ve skorlandı.

0=yok, 1=hafif, 2=orta, 3=yaygın. Her omurilik için histopatolojik puan, bu altı parametrenin puanlarının ortalaması alınarak hesaplandı. En yüksek puan her bir kesit için 18 olacaktır. Apoptotik hücreler, bir ApopTag In Situ Apoptosis Detection Kit (Millipore) kullanılarak etiketlendi. TUNEL pozitif hücreler gri maddede 4 mikronluk kesitlerde ışık mikroskopunda 20'lik objektifde sayıldı ve yüzdeleri alındı.

3.1. Basso Beattie and Bresnahan (BBB) Testi

Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) lokomotor derecelendirme ölçeği torakolomber spinal kord hasarının sıçan modellerinde kullanılmak üzere geliştirilmiş 21 puanlık bir ölçektir. BBB, klinik iyileşmenin iki önemli özelliği olan yaralanma şiddetine ve/veya yaralanmadan sonraki süreye dayalı olarak iyileşme aşamalarını ayırt eder. Yüksek duyarlılığa ve değerlendirme içi güvenilirliğe ve güçlü geçerliliğe sahiptir. Spinal kord hasarından sonra gözlenen histopatolojik değişikliklerle korele olan tek lokomotor skaladır. Ek olarak bu testteki son derece spesifik operasyonel tanımlar puanlamanın öznelliğini azaltarak yönetim kolaylığını ve değerler arasında aslına uygunluğu artırır. (Rachel B.Song ve ark 2016)

Puan	Klinik Muayene
0	Gözlenebilir arka bacak (HL) hareketi yok
1	Genellikle kalça ve/veya diz olmak üzere bir veya iki eklemde hafif hareketi
2	Bir eklemde geniş hareketi veya bir eklemde geniş hareketi ve diğer bir eklemde hafif hareketi
3	İki eklemde kapsamlı hareketi
4	HL'nin üç eklemde de hafif hareketi
5	İki eklemde hafif hareketi ve üçüncü eklemde geniş hareketi
6	İki eklemde geniş hareketi ve üçüncü eklemde hafif hareketi
7	HL'nin üç eklemde tamamının kapsamlı hareketi
8	Ağırlık desteği olmadan süpürme veya ağırlık desteği olmadan pençenin plantar yerleşimi
9	Sadece duruşta ağırlık desteği ile patinin plantar yerleşimi (yani sabitken) veya ara sıra, sık veya tutarlı ağırlık destekli dorsal adımlama ve plantar adımlama yok
10	Ara sıra ağırlık destekli plantar adımlar, ön ayak yok (FL)-HL koordinasyonu
11	Sık ve tutarlı ağırlık destekli plantar adımlar ve FL-HL koordinasyonu yok
12	Sık ila tutarlı ağırlık destekli plantar adımlar ve ara sıra FL-HL koordinasyonu
13	Sık ila tutarlı ağırlık destekli plantar adımlar ve sık FL-HL koordinasyonu

14	Tutarlı ağırlık destekli plantar adımlar, tutarlı FL-HL koordinasyonu; ve hareket sırasında baskın pençe pozisyonu, hareket ettiğinde (içten veya dıştan) döndürülür. yüzeyle ilk temas ve duruşun sonunda kaldırılmadan hemen önce veya sık plantar adımlama, tutarlı FL-HL koordinasyonu ve ara sıra dorsal adım atma
15	Tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu; ve ön uzuv ilerlemesi sırasında parmak açıklığı veya ara sıra parmak açıklığı yok; Baskın pençe pozisyonu, ilk temasta vücuda paraleldir
16	Yürüyüş sırasında tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu; ve ayak parmağı açıklığı, ön uzuv ilerlemesi sırasında sıklıkla meydana gelir; Baskın pençe konumu, ilk temasta paraleldir ve kalkışta döndürülür
17	Yürüyüş sırasında tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu; ve ayak parmağı açıklığı, ön uzuv ilerlemesi sırasında sıklıkla meydana gelir; Baskın pençe pozisyonu ilk temasta paraleldir ve kalkar
18	Yürüyüş sırasında tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu; ve ayak parmağı açıklığı, ileri uzuv ilerlemesi sırasında tutarlı bir şekilde meydana gelir; Baskın pençe konumu, ilk temasta paraleldir ve kalkışta döndürülür
19	Yürüyüş sırasında tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu; ve ayak parmağı açıklığı, ileri uzuv ilerlemesi sırasında tutarlı bir şekilde meydana gelir; baskın pençe konumu, ilk temasta paraleldir ve kalkar ve kuyruk kısmen veya her zaman aşağı
20	Tutarlı plantar adım ve tutarlı koordineli yürüyüş; tutarlı ayak açıklığı; baskın pençe konumu, ilk temasta paraleldir ve kalkar; kuyruk sürekli yukarı ve gövde kararsızlığı
21	Tutarlı plantar adım ve koordineli yürüyüş, tutarlı parmak açıklığı, baskın pençe pozisyon duruş boyunca paralel, tutarlı gövde dengesi, kuyruk sürekli yukarı

Tablo-1: Basso Beattie and Bresnahan (BBB) Testi

(A Sensitive and Reliable Locomotor Rating Scale for Open Field Testing in Rats, d. michele basso, michael s. beattie, and jacqueline c. bresnahan, 1995)

Her rat daha sonra puanlarına bağlı olarak üç kategoriden birine atanır:

Ağır Omurilik Hasarı (0 - 7 puan): Çok az arka bacak hareketi olan veya hiç olmayan izole eklem hareketlerinden oluşur

Orta Omurilik Hasarı (8 - 13 puan): Koordine edilmemiş adım aralıkları

Hafif Omurilik Hasarı (14 - 21 puan): Ön ve arka ayak koordinasyonu

Çalışmada elde edilen veriler bilgisayar ortamında güncel SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 18.0 paket programı kullanılarak gruplar arası farklılıklar tespit edildi.

3.2. Modifiye Tarlov Skalası

Deney hayvanlarının arka ekstremite motor muayenesi için deneysel çalışmalarda sık kullanılan 6 parametrelilik gözleme dayalı klinik bir testtir.

Puan	Klinik Muayene
0	spontan arka bacak hareketi yok.
1	eklemlerin hareketi algılanabilir.
2	aktif hareket, ancak yardımsız arka bacak üzerine kalkamaz.
3	arka bacak üzerine kalkabiliyor ama zıplayamıyor.
4	zayıf atlama.
5	arka bacak fonksiyonları tamamen normal.

Tablo-2: Modifiye Tarlov Skalası

3.3. İstatiksel analiz

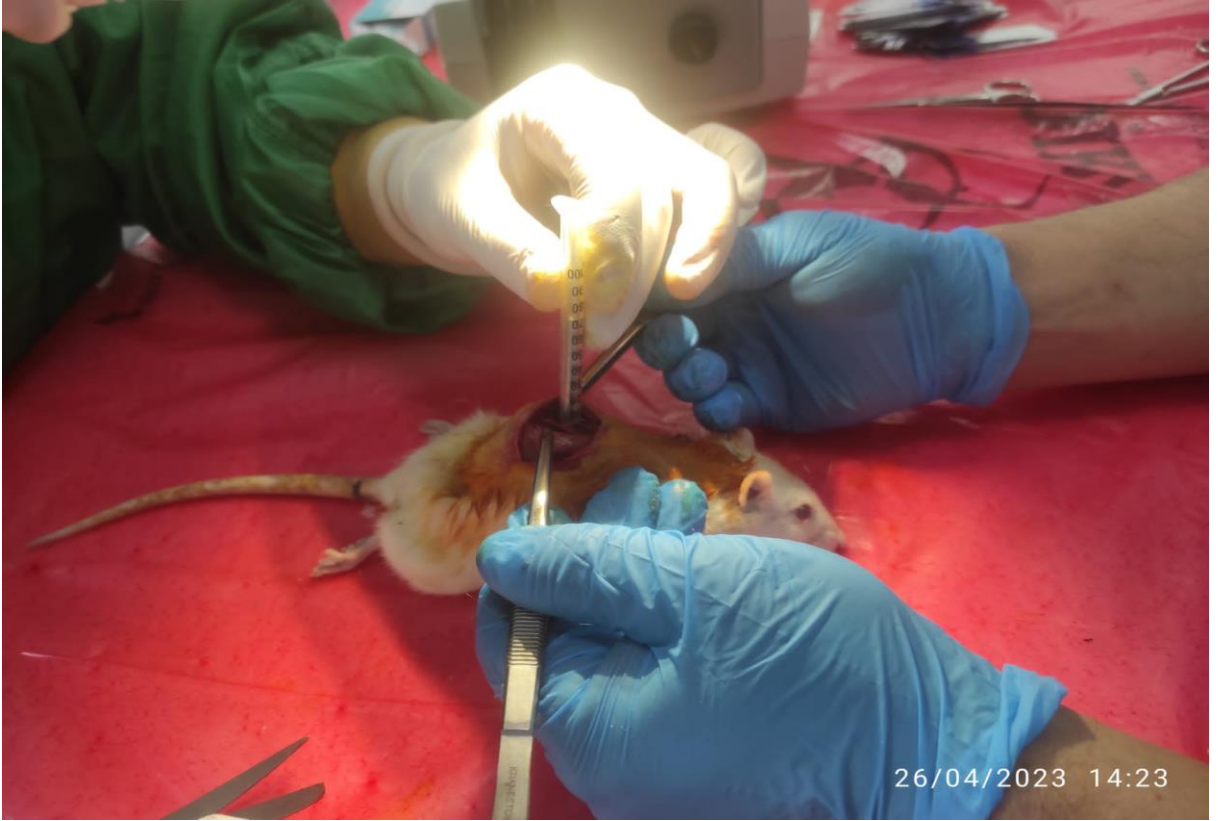
Araştırma sonucu elde edilen veriler bilgisayar ortamında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 18.0 paket programı ile analiz edildi. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. İki den fazla grupta sayısal verilerin dağılımını One-Way ANOVA testi ile değerlendirildi. ANOVA testi anlamlı bulunan değişkenler için Tukey veya Tamhane Post Hoc analizi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.



Resim-4: Median vertikal insizyon



Resim-5: T7 total laminectomi



Resim-6: Titanyum çubuk kullanılarak spinal kord travması



Resim-7: İpek sütürler ile cildin kapatılması

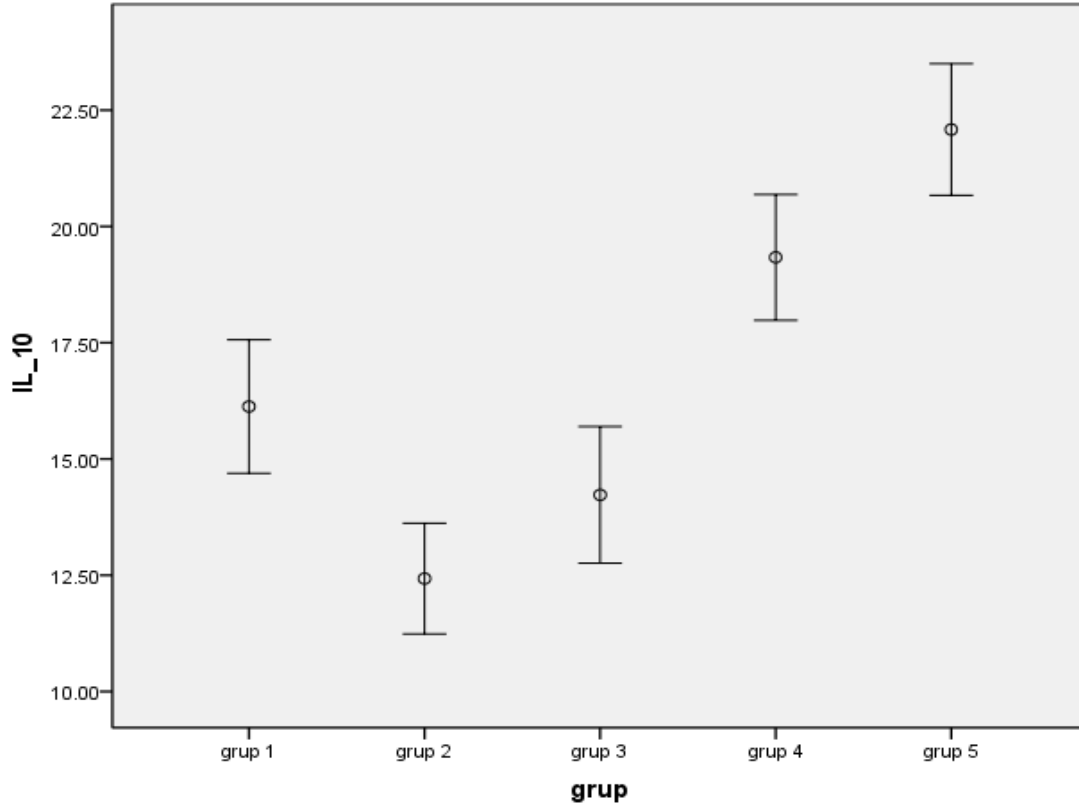
4. BULGULAR

4.1. Serum Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi

Grup	Rat No	IL-10	IL-1Beta	TAS	TOS	MDA
1	1	15,11	2,98	1,93	7,46	3,39
1	2	13,46	2,94	2,21	6,69	3,64
1	3	16,06	3,39	2,02	6,53	3,27
1	4	17,32	3,05	1,57	9,52	3,19
1	5	15,59	3,21	1,57	7,89	4,65
1	6	15,41	3,49	2,11	9,38	3,86
1	7	19,25	4,12	1,97	7,92	4,58
1	8	16,35	3,87	1,67	8,23	4,19
1	9	16,83	3,09	1,84	6,61	3,87
2	1	10,92	4,48	1,58	10,69	3,32
2	2	12,05	4,02	1,66	9,62	4,11
2	3	12,43	3,92	1,13	8,97	3,69
2	4	13,98	5,72	1,26	11,3	3,45
2	5	12,99	4,74	1,23	12,88	4,34
2	6	14,83	5,63	1,13	10,55	4,95
2	7	13,56	4,76	1,26	7,52	4,05
2	8	10,55	3,97	1,23	8,42	2,88
2	9	10,55	3,76	1,17	8,31	3,24
3	1	15,4	5,71	1,06	12,7	5,38
3	2	15,18	5,13	1,14	11,43	5,71
3	3	14,21	4,79	1,23	12,01	4,17
3	4	12,32	6,03	1,07	13,07	4,52
3	5	16,32	6,88	0,99	15,33	3,78
3	6	17,18	5,63	0,94	11,57	3,95
3	7	11,67	4,01	0,99	11,43	5,3
3	8	13,02	4,52	1,04	12,29	3,95
3	9	12,75	4,44	0,99	11,02	5,09
4	1	17,39	2,69	1,48	8,38	4,61
4	2	19,57	3,67	1,56	12,22	4,02
4	3	21,12	4,26	1,63	10,14	4,04
4	4	22,75	4,53	1,27	12,03	3,63
4	5	19,88	3,31	1,27	10,16	4,22
4	6	18,33	3,58	1,61	8,48	4,48
4	7	17,39	3,01	1,59	8,03	3,27
4	8	18,33	3,13	1,49	9,92	3,54
4	9	19,26	4,25	1,29	8,91	2,97
5	1	20,83	2,88	1,95	7,73	2,93
5	2	23,04	3,71	2,05	9,69	3,93
5	3	24,36	4,27	1,41	7,03	2,93
5	4	23,34	3,74	1,56	9,42	3,77
5	5	22,89	3,76	1,52	7,03	4,35
5	6	22,24	2,87	1,45	9,05	3,83
5	7	18,01	2,68	1,63	10,43	3,82
5	8	21,45	2,88	1,76	9,13	3,05
5	9	22,6	2,98	1,89	7,03	2,72

Tablo-3: Serum Biyokimya Verileri

4.1.1 Serum IL-10 Düzeyleri



Grafik-1: Serum biyokimya verilerinde grup içi IL-10 değerlerinin dağılımı

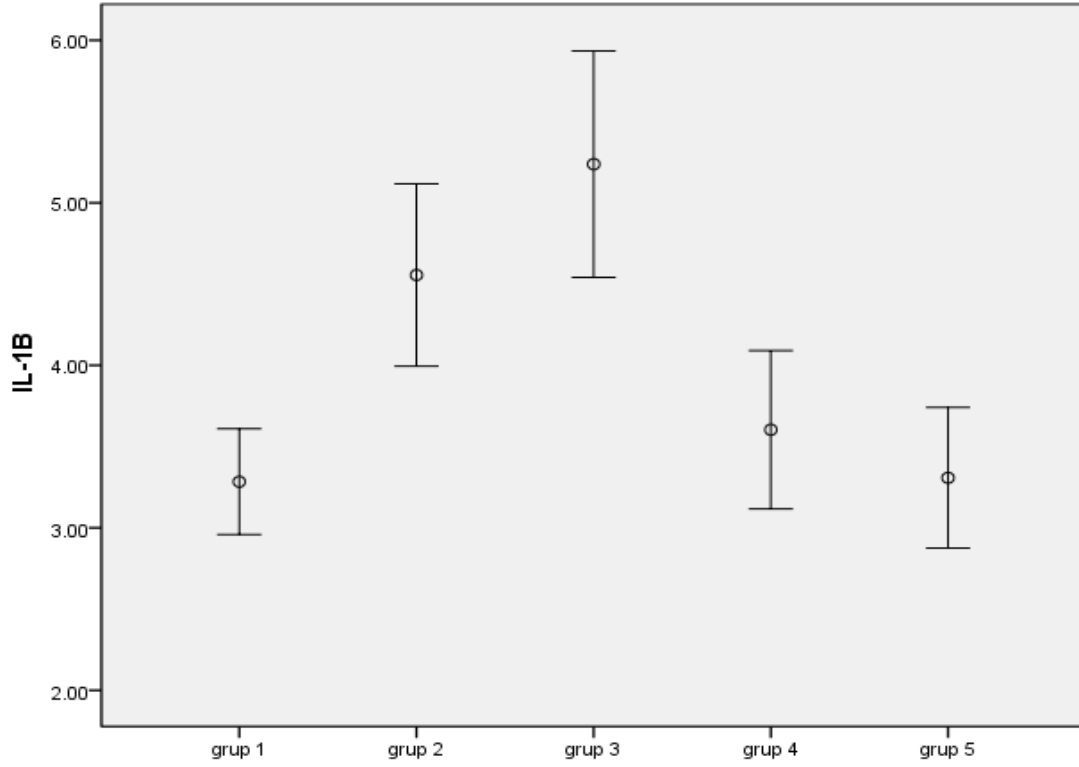
Grupların IL-10 düzeyleri 5 grupta da birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu. Grup-5'teki ratların IL-10 düzeyi diğer gruptakilere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek, Grup-2'deki ratların ise IL-10 düzeyin diğer gruptaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu saptandı ($p < 0,05$)

Tablo-4: Grupların IL-10 Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P değeri
Arit.Ort.±SS	Arit.Ort.±SS	Arit.Ort.±SS	Arit.Ort.±SS	Arit.Ort.±SS	
16,12±1,71*	12,42±1,55*	14,22±1,91*	19,33±1,76*	22,08±1,84*	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.1.2 Serum IL-1Beta Düzeyleri



Grafik-2: Serum biyokimya verilerinde grup içi IL-1Beta değerlerinin dağılımı

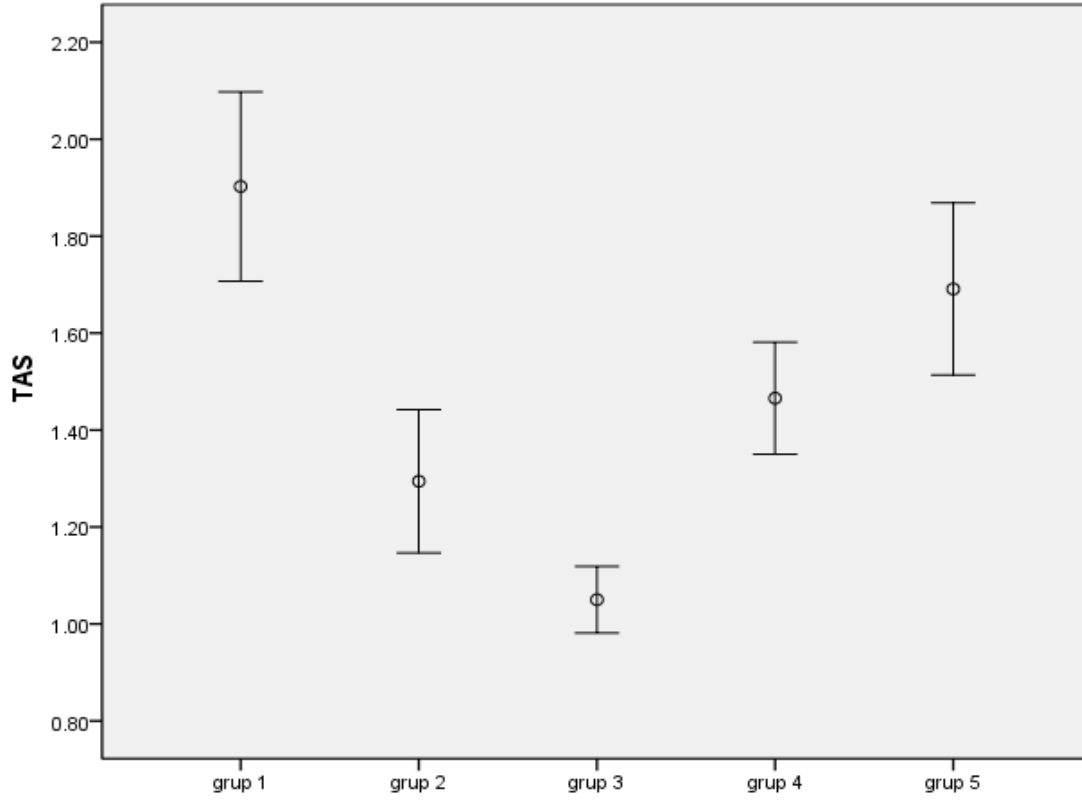
Grup-2'deki ratların IL-1 β düzeyinin Grup-1, Grup-4 ve Grup-5'teki ratlardan istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu, Grup-3'teki ratların IL-1 β düzeyinin Grup-2 ve diğer gruplardaki ratların IL-1 β düzeyine göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu saptandı. ($p < 0,05$)

Tablo-5: Grupların IL-1 β Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P değeri
Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	
3,28 \pm 0,38	4,55 \pm 0,72*	5,23 \pm 0,90*	3,60 \pm 0,63	3,30 \pm 0,56	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.1.3 Serum TAS Düzeyleri



Grafik-3: Serum biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı

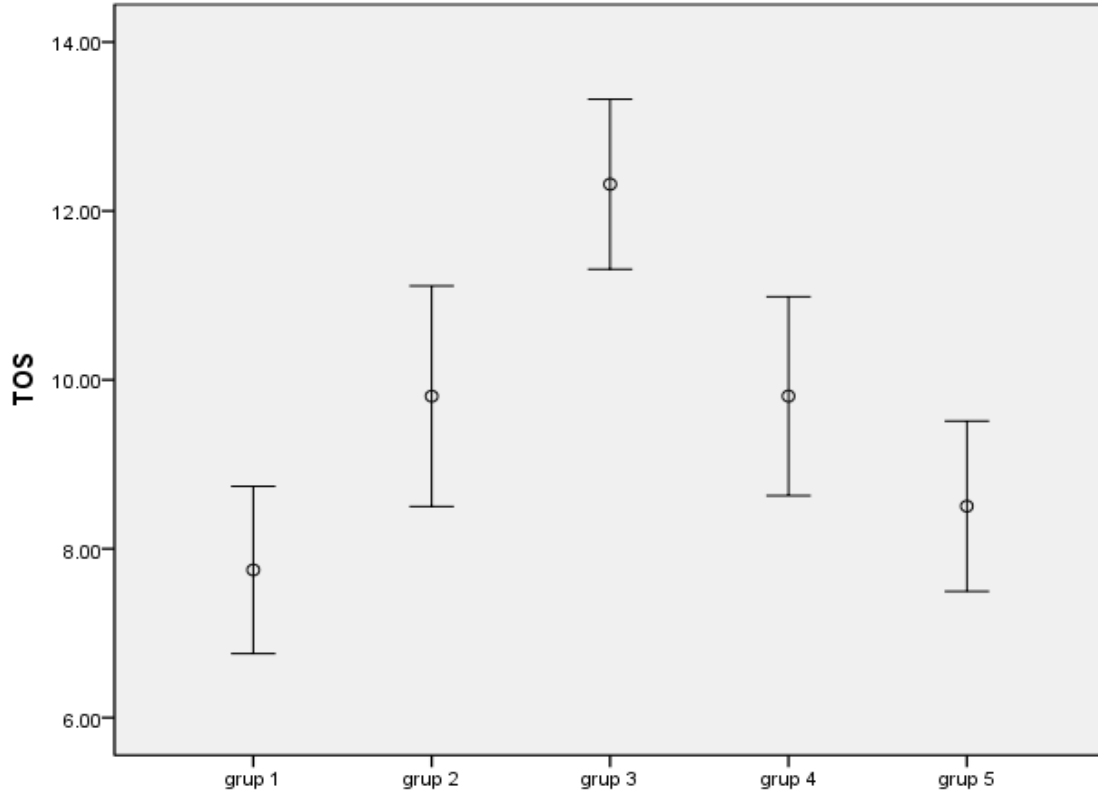
TAS düzeyinin Grup-1 ve Grup-5'teki ratlarda diğer gruplardaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. ($p<0,05$)

Tablo-6: Grupların TAS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P değeri
Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	
1,90±0,23*	1,29±0,19	1,05±0,08	1,46±0,15	1,69±0,23*	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.1.4 Serum TOS Düzeyleri



Grafik-4: Serum biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı

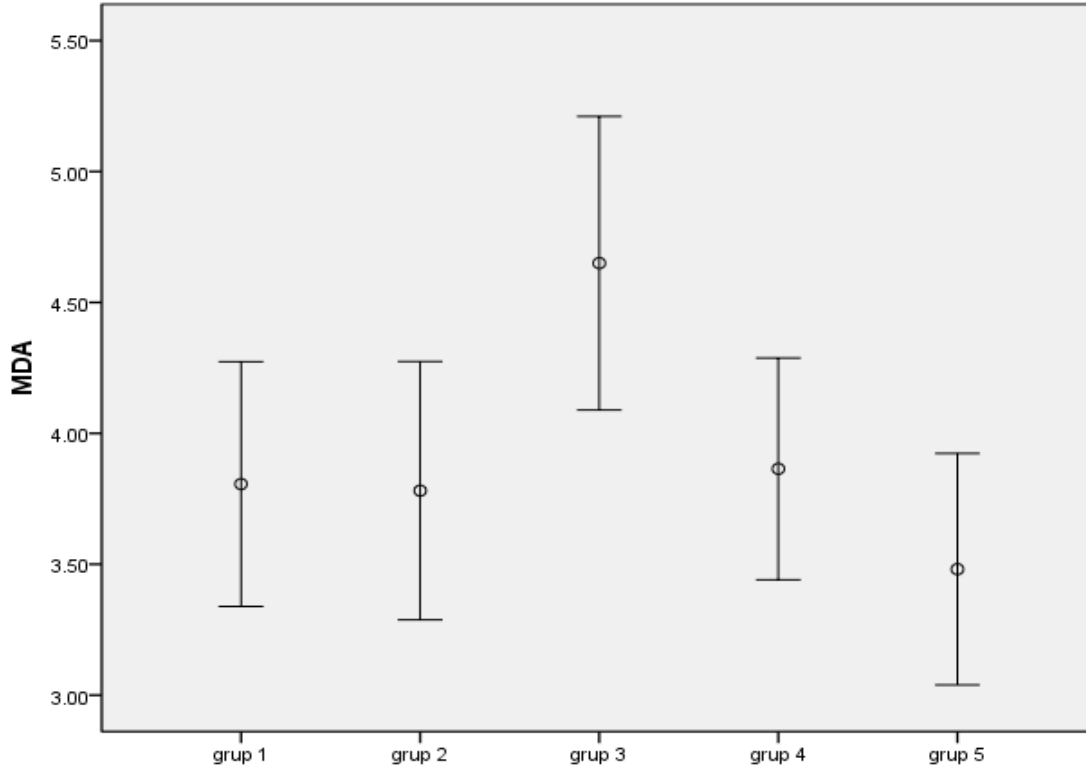
TOS düzeyleri Grup-1'deki ratlarda diğer gruplara göre anlamlı düşük, Grup-3'teki ratlarda ise istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi. ($p < 0,05$)

Tablo-7: Grupların TOS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P değeri
Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	
7,75±1,18*	9,80±1,70	12,31±1,30*	9,80±1,53	8,50±1,31	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.1.5 Serum MDA Düzeyleri



Grafik-5: Serum biyokimya verilerinde grup içi MDA değerlerinin dağılımı

MDA düzeyi Grup-5'teki ratlarda diğer gruplardaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı. ($p < 0,05$)

Tablo-8: Grupların MDA Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P değeri
Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	
3,80±0,55	3,78±0,64	4,65±0,72	3,86±0,55	3,48±0,57*	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.1.6 Serum Biyokimyasal Verilerin Analizi

Araştırma sonucu elde edilen veriler bilgisayar ortamında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 18.0 paket programı ile analiz edildi. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. İki'den fazla grupta sayısal verilerin dağılımı One-Way ANOVA testi ile değerlendirildi. ANOVA testi anlamlı bulunan değişkenler için Tukey veya Tamhane Post Hoc analizi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi

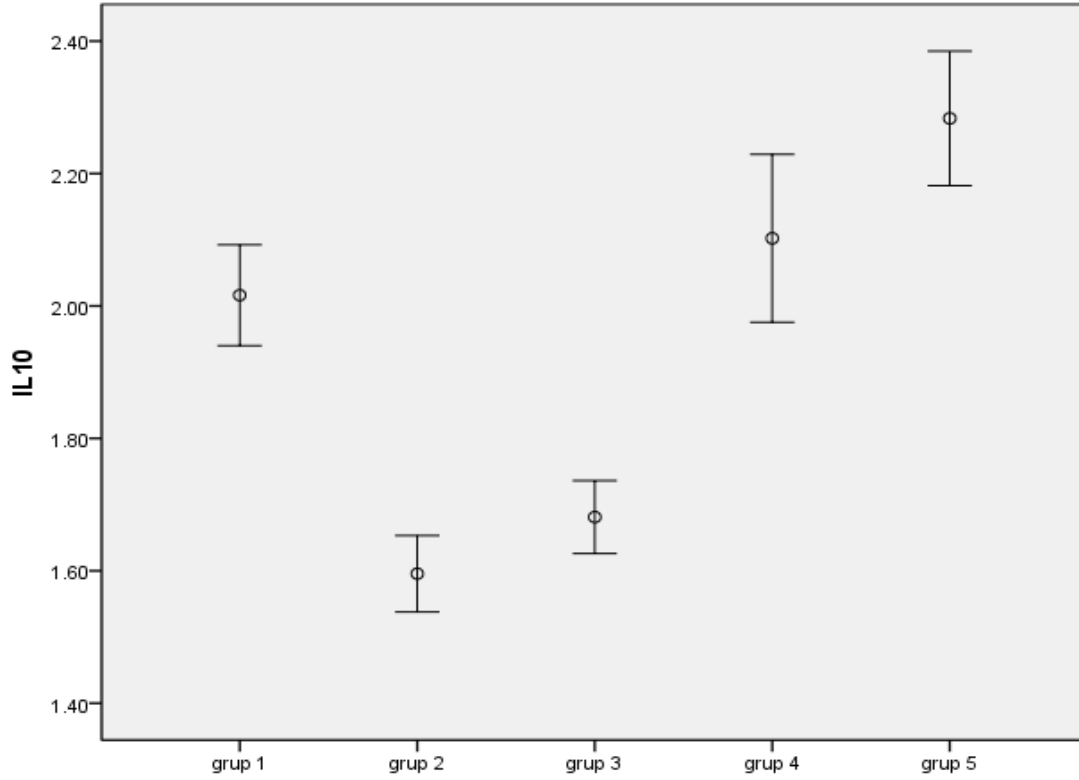
Çalışmada toplam 45 tane wistar albino cinsi rat kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen 45 rat 5 gruba ayrıldı. Grupların IL-10 düzeyleri 5 grupta da birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu. Grup-5'teki ratların IL-10 düzeyi diğer gruptakilere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek, Grup-2'deki ratların ise IL-10 düzeyin diğer gruplardaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu saptandı ($p<0,05$). Grup-2'deki ratların IL-1 β düzeyinin Grup-1, Grup-4 ve Grup-5'teki ratlardan istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu, Grup-3'teki ratların IL-1 β düzeyinin Grup-2 ve diğer gruplardaki ratların IL-1 β düzeyine göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). TAS düzeyin Grup-1 ve Grup-5'teki ratlarda diğer gruplardaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ($p<0,05$). TOS düzeyleri Grup-1'deki ratlarda diğer gruplara göre anlamlı düşük, Grup 3'teki ratlarda ise istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi ($p<0,05$). MDA düzeyi Grup 5'teki ratlarda diğer gruplardaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı ($p<0,05$)

4.2. Doku Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi

Grup	Rat No	IL-10	IL-1Beta	TAS	TOS	MDA
1	1	2,08	1,94	1,74	16,63	5,45
1	2	2,01	1,96	1,81	17,10	6,03
1	3	2,08	1,75	1,74	15,54	6,08
1	4	1,86	2,03	1,86	18,03	5,24
1	5	2,01	1,82	1,68	16,16	5,98
1	6	1,93	2,03	1,74	18,03	5,66
1	7	2,01	1,89	1,61	16,78	5,87
1	8	2,12	1,91	1,72	16,52	5,23
1	9	2,15	2,05	1,61	16,21	5,24
2	1	1,69	3,12	1,15	22,57	7,46
2	2	1,57	3,25	1,20	25,28	7,74
2	3	1,63	2,99	1,24	24,38	7,46
2	4	1,67	3,12	1,10	26,18	6,91
2	5	1,63	3,25	1,14	22,57	7,18
2	6	1,51	3,38	1,19	24,38	7,46
2	7	1,46	3,51	1,06	23,47	6,91
2	8	1,57	3,12	1,23	23,54	8,01
2	9	1,63	3,12	1,20	23,47	7,46
3	1	1,74	3,40	0,98	29,56	7,81
3	2	1,61	3,93	0,98	29,69	8,02
3	3	1,67	3,70	1,09	27,92	7,81
3	4	1,74	3,84	1,02	29,02	7,25
3	5	1,61	3,55	1,06	26,81	6,97
3	6	1,74	3,81	1,02	28,79	7,25
3	7	1,71	3,64	0,93	22,26	5,79
3	8	1,56	3,39	0,86	27,51	6,04
3	9	1,75	3,44	0,96	25,63	7,46
4	1	1,80	2,19	1,22	20,28	6,45
4	2	2,30	2,64	1,30	20,90	7,50
4	3	2,14	2,97	1,30	23,49	7,50
4	4	2,22	2,53	1,35	20,04	6,73
4	5	1,98	2,75	1,20	21,77	6,99
4	6	1,98	2,75	1,20	21,77	7,57
4	7	2,06	2,76	1,25	22,63	6,99
4	8	2,30	2,53	1,40	20,04	7,24
4	9	2,14	2,83	1,30	22,45	6,73
5	1	2,39	2,15	1,52	18,59	6,12
5	2	2,41	2,23	1,46	19,31	6,35
5	3	2,08	2,15	1,57	17,88	5,67
5	4	2,37	2,23	1,58	20,18	6,12
5	5	2,24	2,31	1,65	20,95	5,90
5	6	2,33	2,15	1,52	21,72	6,12
5	7	2,08	2,23	1,46	19,41	6,58
5	8	2,41	2,24	1,68	20,02	5,90
5	9	2,24	2,33	1,58	17,88	6,58

Tablo-9: Doku Biyokimya Verileri

4.2.1 Doku IL-10 Düzeyleri



Grafik-6: Doku biyokimya verilerinde grup içi IL-10 değerlerinin dağılımı

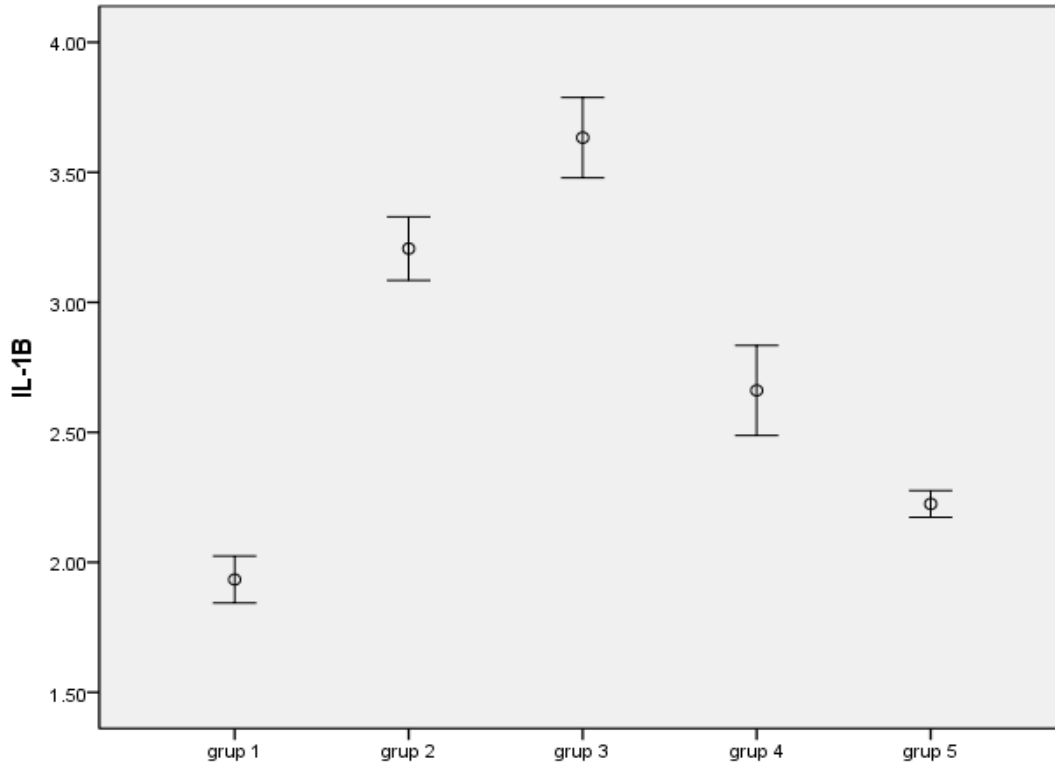
Doku IL-10 düzeyi Grup-1 ve Grup-4'teki ratlarda Grup-2 ve Grup-3'teki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek, Grup-5'teki ratlara göre ise istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı. ($p < 0,05$)

Tablo-10: Grupların IL-10 Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	p
Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	
2,01±0,09*	1,59±0,07	1,68±0,07	2,10±0,16*	2,28±0,13	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.2.2 Doku IL-1Beta Düzeyleri



Grafik-7: Doku biyokimya verilerinde grup içi IL-1beta değerlerinin dağılımı

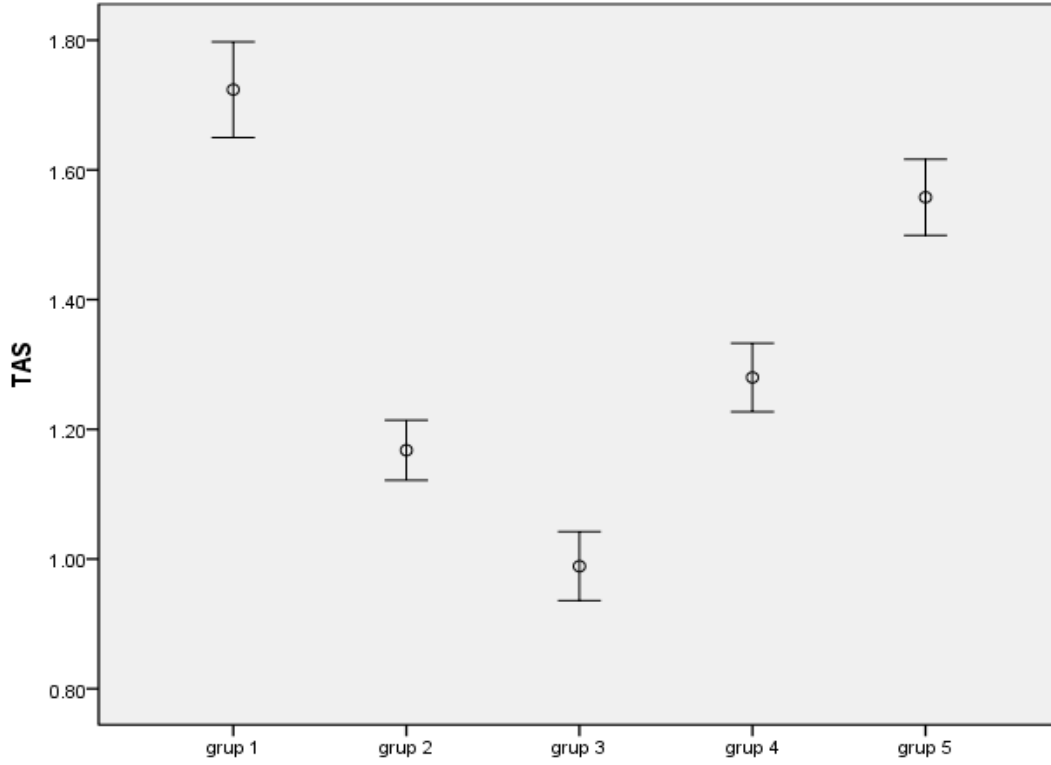
Doku IL-1 β düzeyleri tüm gruplarda birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklı tespit edildi. ($p < 0,05$)

Tablo-11: Grupların IL-1beta Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	p
Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	
1,93 \pm 0,10*	3,20 \pm 0,15*	3,63 \pm 0,20*	2,66 \pm 0,22*	2,22 \pm 0,06*	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.2.3 Doku TAS Düzeyleri



Grafik-8: Doku biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı

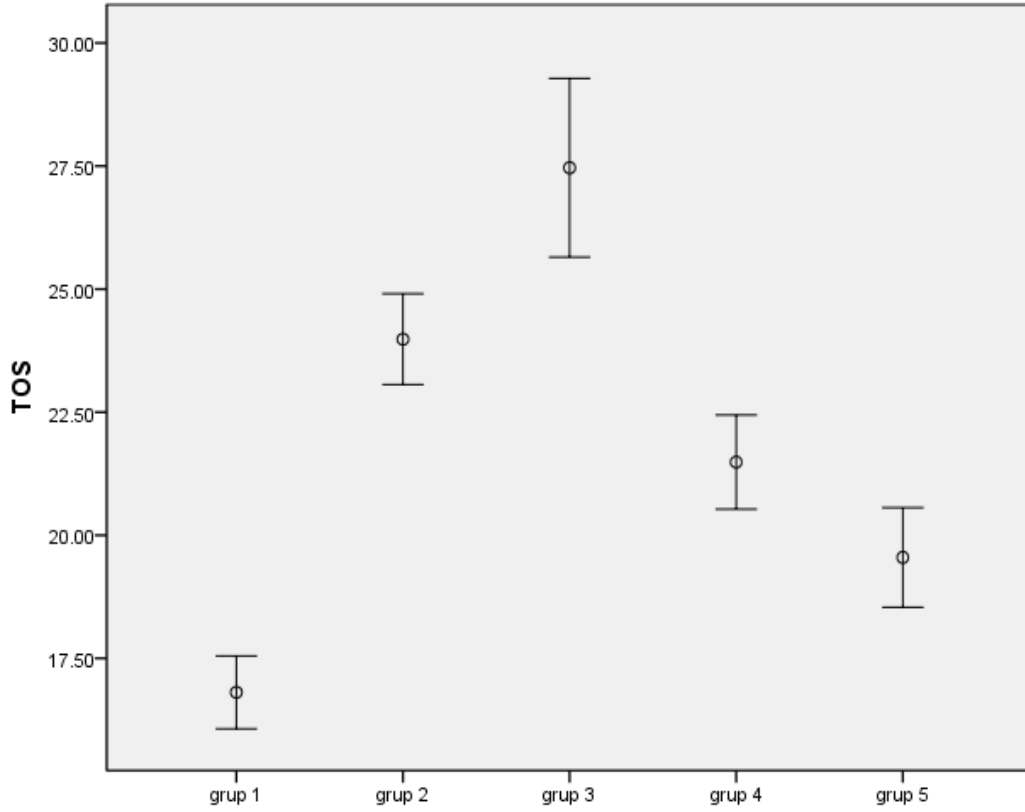
Doku TAS düzeyleri tüm gruplarda birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklı tespit edildi. ($p < 0,05$)

Tablo-12: Grupların TAS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	p
Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	
1,72±0,08*	1,16±0,06*	0,98±0,06*	1,28±0,06*	1,55±0,07*	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.2.4 Doku TOS Düzeyleri



Grafik-9: Doku biyokimya verilerinde grup içi TOS değerlerinin dağılımı

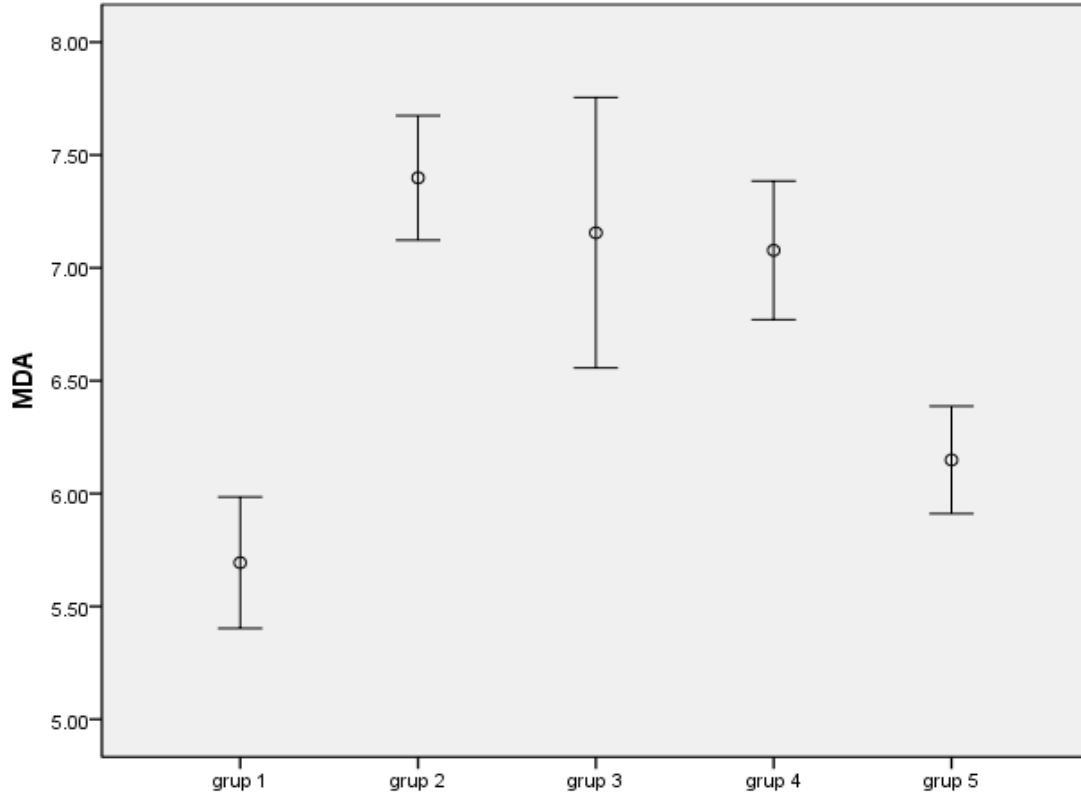
Doku TOS düzeyleri Grup-4 ve Grup-5'teki ratlarda Grup-2 ve Grup-3'teki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük, Grup-1'deki ratlara göre ise istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. ($p < 0,05$)

Tablo-13: Grupların TOS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	p
Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	
16,81±0,88*	23,98±1,20*	27,46±2,36*	21,48±1,24	19,54±1,31	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.2.5 Doku MDA Düzeyleri



Grafik-10: Doku biyokimya verilerinde grup içi MDA değerlerinin dağılımı

Grup-1 ve Grup-5'teki ratların MDA düzeyleri Grup-2, Grup-3 ve Grup-4'teki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. ($p < 0,05$)

Tablo-14: Grupların MDA Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=8)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	p
Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	Arit.ort.±SS	
5,69±0,34*	7,39±0,35	7,15±0,77	7,07±0,39	6,14±0,30*	<0,05

*: Farkın kaynaklandığı gruba işaret etmektedir.

4.2.6 Doku Biyokimyasal Verilerin Analizi

Araştırma sonucu elde edilen veriler bilgisayar ortamında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 18.0 paket programı ile analiz edildi. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. İki den fazla grupta sayısal verilerin dağılımı One-Way ANOVA testi ile değerlendirildi. ANOVA testi anlamlı bulunan değişkenler için Tukey veya Tamhane Post Hoc analizi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi

Doku IL-10 düzeyi Grup-1 ve Grup-4'teki ratlarda Grup-2 ve Grup-3'teki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek, Grup-5'teki ratlara göre ise istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı ($p < 0,05$). Doku IL-1 β ve TAS düzeyleri tüm gruplarda birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklı tespit edildi ($p < 0,05$). Doku TOS düzeyleri Grup-4 ve Grup-5'teki ratlarda Grup-2 ve Grup-3'teki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük, Grup 1'deki ratlara göre ise istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ($p < 0,05$). Doku TOS düzeyleri tüm gruplarda birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklı tespit edildi ($p < 0,05$). Grup-1 ve Grup-5'teki ratların MDA düzeyleri Grup-2, Grup-3 ve Grup-4'teki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p < 0,05$)

4.3. Histolojik prosedürler

Dokular çıkarıldıktan sonra 2 gün %10'luk formaldehitte tespit edildi. Alkol takibinden sonra parafine gömüldü ve 4 mikronluk kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen Eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. Spinal kordun tüm örneklerinde histopatolojik değişikliklerin (hemoraji, nekroz, akson dejenerasyonu, vakuol, nöron hasarı) tespiti gerçekleştirildi. Histopatolojik değişikliklerin derecesine göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak skorlandı. Maksimum skor:15 olarak belirlendi.

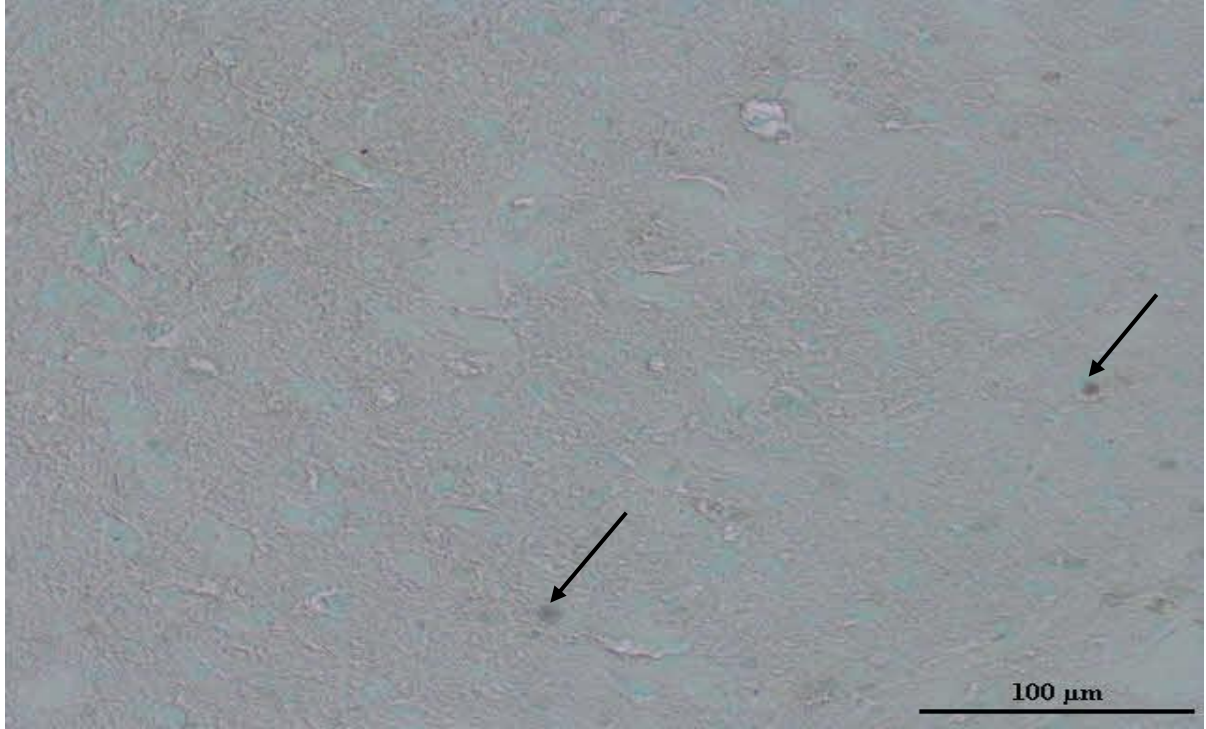
4.3.1. TUNEL Methodu ve İstatistiksel Analiz

Apoptotik hücreler, bir ApopTag In Situ Apoptoz Tespit Kiti (Millipore) kullanılarak etiketlendi. DNA fragmanları terminal deoksinükleotidil transferazın etkisiyle modifiye edildi. Tüm prosedürler üreticinin talimatlarını izledi. TUNEL pozitif ve toplam hücreler gri maddede 4 mikronluk kesitlerde 20'lik objektifde sayıldı ve yüzdeleri alındı. Böylece apoptotik indeks (TUNEL pozitif hücrelerin tüm hücrelere oranı) hesaplandı. Ölçüm için her grubun sekiz kesiti kullanıldı ve her kesitten 5 alan hesaplamada kullanıldı.

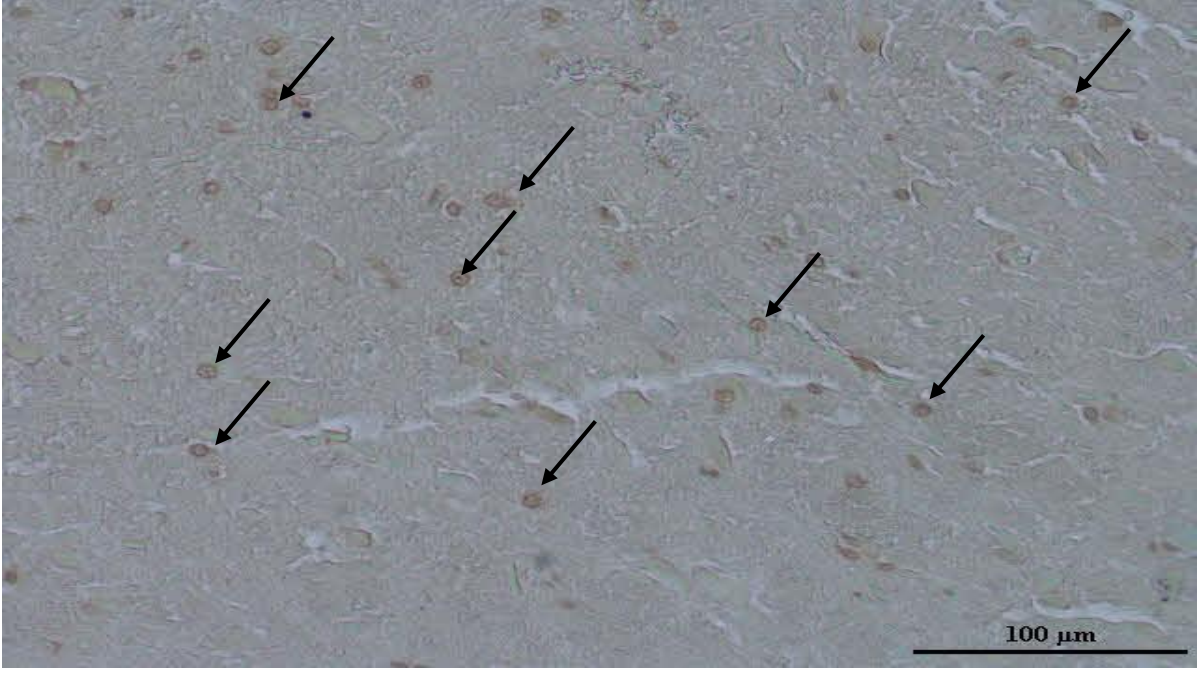
TUNEL pozitif hücre sayısı, histopatolojik skor, Biyokimya serum ve doku değerleri (TUKEY HST) ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak karşılaştırıldı.

Tablo-15: Gruplar Arası Apoptotik İndeks Değerlendirilmesi

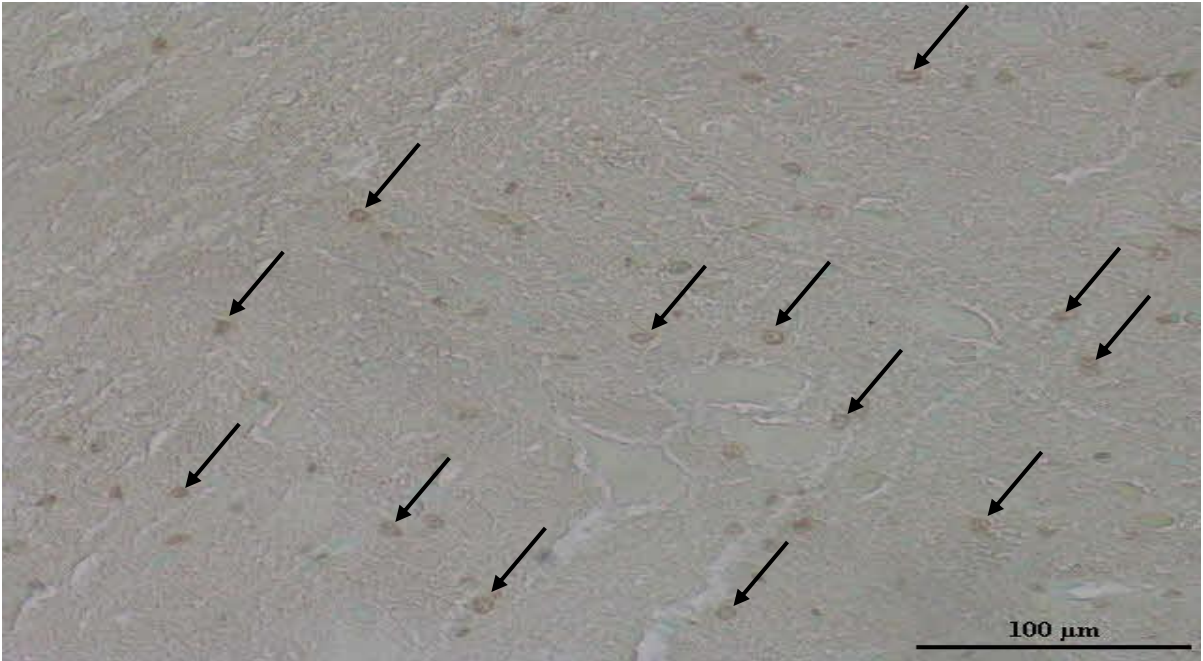
Grup	n	Apoptotik İndeks
Grup1	9	14,31 ^a ±2,68
Grup2	9	62,24 ^b ±5,14
Grup3	9	59,83 ^b ±7,37
Grup4	9	50,17 ^c ±4,95
Grup5	9	32,16 ^d ±5,74



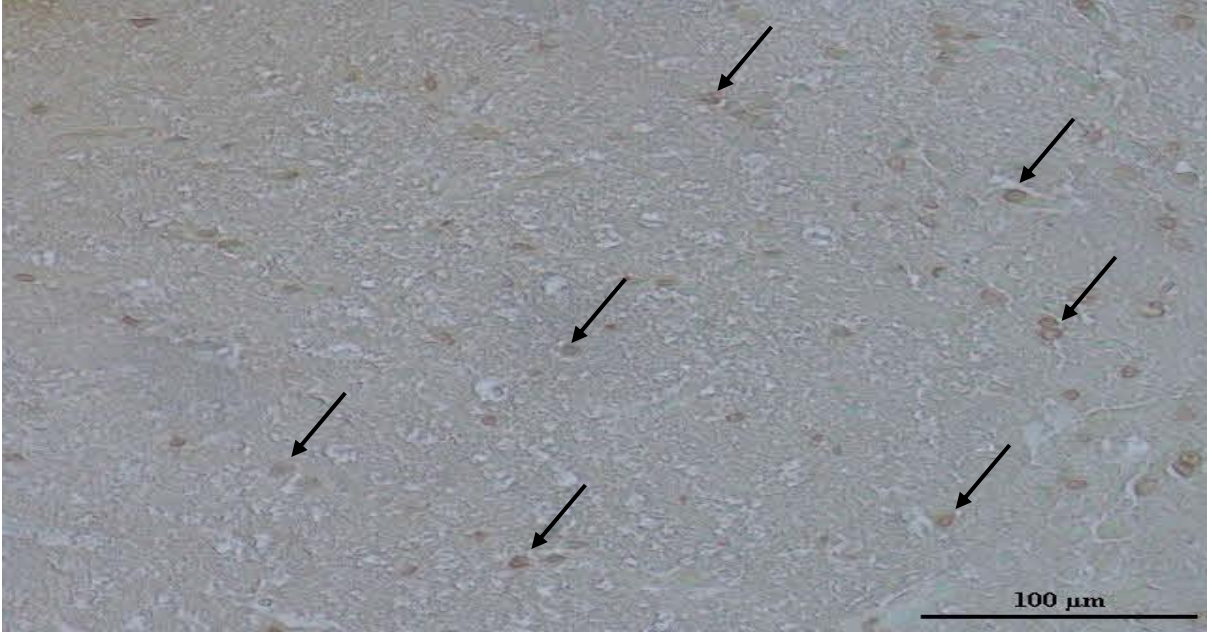
Resim-8: Grup 1'e ait TUNEL pozitif hücreler



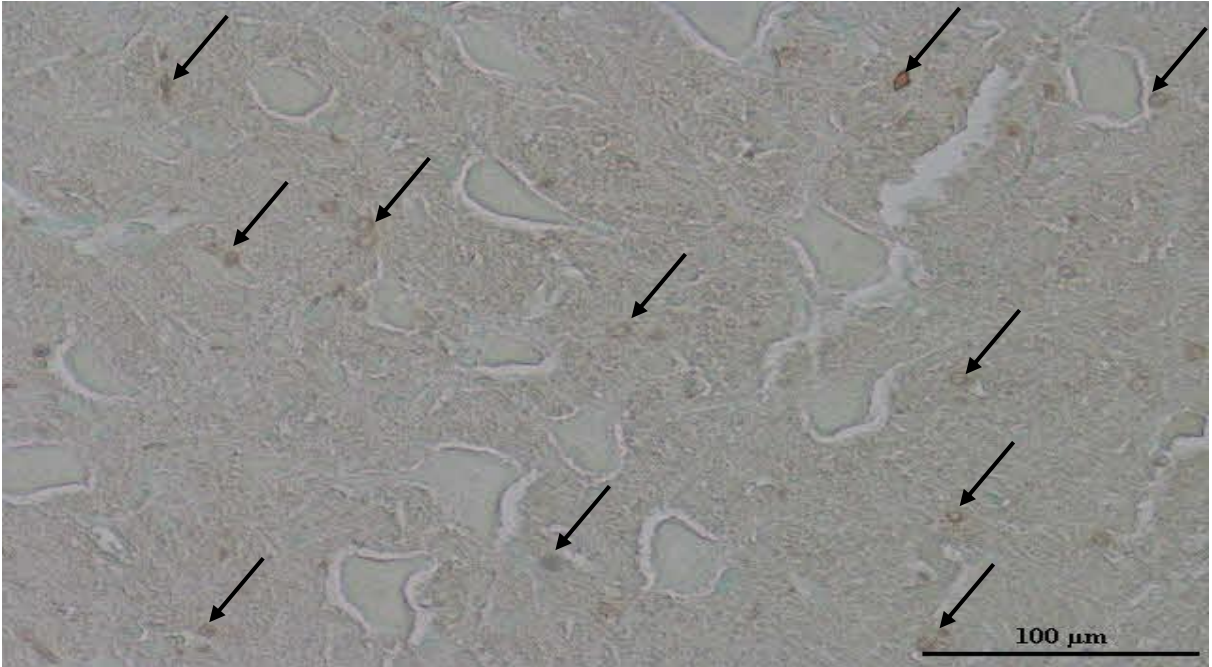
Resim-9: Grup 2'e ait TUNEL pozitif hücreler



Resim-10: Grup 3'e ait TUNEL pozitif hücreler

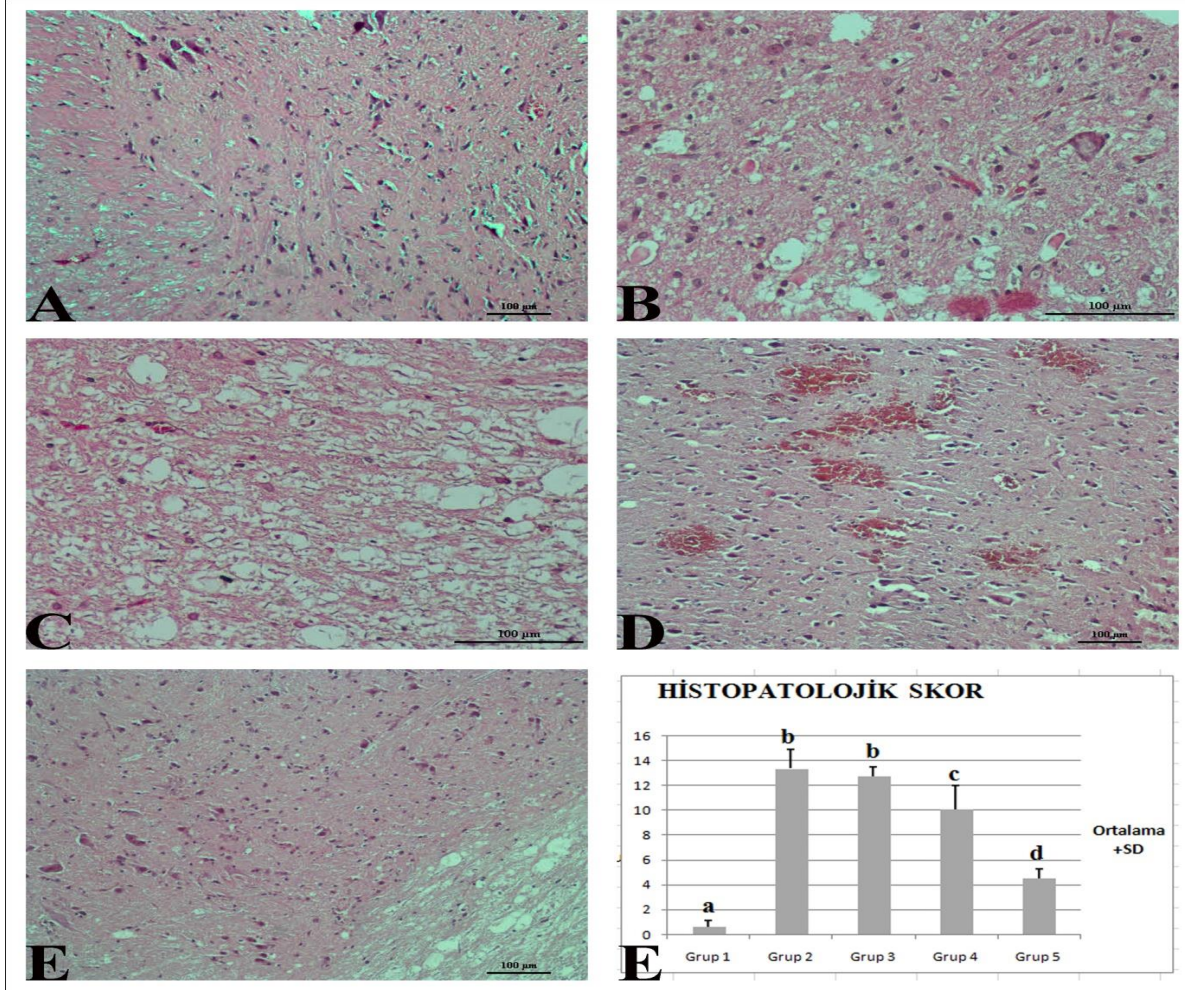


Resim-11: Grup 4'e ait TUNEL pozitif hücreler



Resim-12: Grup 5'e ait TUNEL pozitif hücreler

Grup-1'e göre diğer gruplarda anlamlı olarak TUNEL pozitif hücre sayısı ve apoptotik indeksin arttığı gözlemlendi. Grup-2 ve Grup-3'te ise TUNEL pozitif hücre sayısı ve apoptotik indeksin ortalaması istatistiksel olarak benzer olarak tespit edildi. Grup-4 ve Grup-5'te ilacın etkisi ile TUNEL pozitif hücre sayısı ve apoptotik indeksin anlamlı olarak Grup-2 ve Grup-3'e göre göre azaldığı tespit edildi. Grup-5'te diğer deney gruplarına göre en düşük apoptotik indeks tespit edildi.



Resim-13: Hematoksilen Eozin boyanmış kesitler

Hematoksilen Eozin boyanan kesitlerde spinal kord hasarının en şiddetli olduğu grup, Grup-2 ve Grup-3 olarak gözlemlendi ve istatistiksel olarak ortalamaları benzer tespit edildi. Deney grupları arasında en düşük histopatolojik skor Grup-5'te ve daha sonra Grup-4'te tespit edildi. Hemoraji, nekroz, akson dejenerasyonu, gri maddede nötrofil vakuolizasyonu ve gri maddede nekrotik nöronlar gözlemlendi.

4.4. Fiziksel Test Verileri

No	Grup	Rat	BBB testi (d.ö.)	BBB testi (d.s.)	Modifiye T.S. (d.ö.)	Modifiye T.S. (d.s.)
1	1	1	21	21	5	5
2	1	2	21	21	5	5
3	1	3	21	20	5	5
4	1	4	21	21	5	5
5	1	5	21	21	5	5
6	1	6	21	20	5	5
7	1	7	21	21	5	5
8	1	8	21	20	5	5
9	1	9	21	21	5	5
10	2	1	21	19	5	4
11	2	2	21	21	5	5
12	2	3	21	21	5	5
13	2	4	21	18	5	4
14	2	5	21	20	5	5
15	2	6	21	19	5	4
16	2	7	21	21	5	5
17	2	8	21	21	5	5
18	2	9	21	20	5	5
19	3	1	21	0	5	0
20	3	2	21	0	5	0
21	3	3	21	4	5	1
22	3	4	21	0	5	0
23	3	5	21	4	5	1
24	3	6	21	4	5	1
25	3	7	21	0	5	0
26	3	8	21	4	5	1
27	3	9	21	3	5	1
28	4	1	21	10	5	2
29	4	2	21	9	5	2
30	4	3	21	11	5	3
31	4	4	21	9	5	2
32	4	5	21	10	5	2
33	4	6	21	12	5	3
34	4	7	21	11	5	3
35	4	8	21	8	5	2
36	4	9	21	10	5	2
37	5	1	21	13	5	3
38	5	2	21	13	5	3
39	5	3	21	11	5	3
40	5	4	21	12	5	3
41	5	5	21	15	5	4
42	5	6	21	14	5	3
43	5	7	21	14	5	3
44	5	8	21	11	5	3
45	5	9	21	15	5	4

Tablo-16: Deney Öncesi (d.ö.) ve Deney Sonrası (d.s.) Fiziksel Test Verileri

4.4.1. Modifiye Tarlov Skalası

Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. ($p=0.008$)

Her grupta modifiye tarlov skalası deney öncesi ve sonrası tekrar edildiğinden ve veriler bağımlı nonparametrik değişkenlerden oluştuğu için Wilcoxon Signed Ranks Test grup içi karşılaştırmalar uygulanmıştır. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ kabul edilmiştir.

Grup-1: modifiye tarlov skalasında, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık yoktur. ($p=1.0$)

Grup-2: modifiye tarlov skalasında, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık yoktur. ($p>0.05$)

Grup-3: modifiye tarlov skalasında, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık görüldü. ($p<0.05$)

Grup-4: modifiye tarlov skalasında, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık görüldü. ($p<0.05$)

Grup-5: modifiye tarlov skalasında, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık görüldü. ($p<0.05$)

Gruplar arası ikili karşılaştırma için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi uygulandığında;

Grup 1 ve grup 2 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p>0.05$) görüldü.

Grup 1 ve grup 3 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 1 ve grup 4 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 1 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 2 ve grup 3 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 2 ve grup 4 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 2 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 3 ve grup 4 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p>0.05$) görüldü.

Grup 3 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p>0.05$) görüldü.

Grup 4 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p>0.05$) görüldü.

4.4.2. Basso, Beattie and Bresnahan (BBB) testi

Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. ($p=0.01$)

Grup-1: BBB testinde, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık yoktur. ($p=1.0$)

Grup-2: BBB testinde, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık yoktur. ($p>0.05$)

Grup-3: BBB testinde, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık görüldü. ($p<0.05$)

Grup-4: BBB testinde, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık görüldü. ($p<0.05$)

Grup-5: BBB testinde, deney öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık görüldü. ($p<0.05$)

Gruplar arası ikili karşılaştırma için Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi uygulandığında;

Grup 1 ve grup 2 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p>0.05$) görüldü.

Grup 1 ve grup 3 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 1 ve grup 4 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 1 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 2 ve grup 3 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 2 ve grup 4 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 2 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 3 ve grup 4 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 3 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olduğu ($p<0.05$) görüldü.

Grup 4 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p>0.05$) görüldü.

5. TARTIŞMA

Spinal kord yaralanması, primer hasar sonrası görülen sitotoksik ödem, vasküler disfonksiyon ve hücre içi tampon mekanizmasının bozulduğu çok sayıda bileşenden oluşan multidisipliner yaklaşım gerektiren bir durumdur. (Sekhon ve ark, 2001)

Akut spinal kord yaralanmasında, posttravmatik birkaç dakika sonra başlayan sekonder mekanizmalar; sitotoksisite, kord ödemi ve iskemisi, serbest radikal etkisi gibi bileşenleri içerir. (Pinchi ve ark, 2019)

Bahsi geçen sekonder mekanizmaların kısmi de olsa geri döndürülebilmesi ve farklı tedavi modellerinin denenmesinde esas hedefdir. Deneyimizde antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik etkinliği bilinen Myricetin molekülünü kullandık. Biyokimyasal olarak serumdaki ve dokudaki analizini yaptığımız IL-10, IL-1beta, TAS, TOS, MDA seviyeleri ile Myricetin'in antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerini gözlemledik. Hücre hasarını ışık mikroskopu altında gözlemek için malinowsky skorunu kullandık. Ayrıca Modifiye Tarlov Skalası ve Basso, Beattie and Bresnahan (BBB) testi ile klinik olarak ayrıntılı gözlem şansına sahip olduk.

Serum ve dokuda, IL-10'un inflamasyon varlığında düşük, antiinflamasyon durumunda yüksek titrelerde olduğu görülmektedir. Grup-1 verileri baz değerler olarak kabul edildiğinde, ilaç verilmeyen gruplar (grup-2 ve grup-3) arasında IL-10 düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamda farklılık olmadığı, matematiksel anlamda beklenen düşüşün olduğu görüldü. Bunun nedeni, deney esnasında grup-2 ye laminektomi yapılırken birkaç deney hayvanın zarar görmesi, 1 haftalık takip süresinde enfeksiyon gelişi ve istatistiksel olarak nonparametrik testlerin uygulanmasındaki zorluktur. Grup-1 ile ilaç grupları (grup-4 ve grup-5) kıyaslandığında, istatistiksel anlamda belirgin fark görüldü. İlaç verilmeyen gruplar (grup-2 ve grup-3) ile ilaç grupları (grup-4 ve grup-5) karşılaştırıldığında antiinflamasyonun hakim olduğu ilaç gruplarında IL-10 düzeyleri daha yüksek görülmüştür. Grup-4 ve grup-5 kendi aralarında kıyaslandığında istatistiksel anlamda belirgin fark olmadığı lakin IL-10 titrelerinde matematiksel anlamda fark olduğu görüldü. Sonuç olarak Myricetin, IL-10 aracılığı ile belirgin antiinflamatuvar etkinlik göstermiş fakat ilacın yüksek/düşük doz uygulanması arasında belirgin fark yoktur sonucuna varılmıştır. Xinyan Qu ve ark. 2019'da Journal of Pharmacy and Pharmacology dergisinde yayınlanan "Dekstran sülfat sodyumun neden olduğu akut ülseratif kolitte Myricetin'in bağışıklık dengesini geri kazandırma potansiyeli" adlı çalışmalarında, ratlara 80mg/kg Myricetin uygulaması sonrası IL-10 seviyelerinin anlamlı yükseldiğini tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda saptanan IL-10 artışı bu çalışma ile uyumluluk göstermiştir.

İnflamasyonda yüksek, antiinflamasyon durumunda düşük seviyede izlenen IL-1beta'nın serum verilerine bakıldığında, grup-1 verileri baz olarak alındığında, grup-2 IL-1 β düzeyinin grup-1, grup-4 ve grup-5'ten istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu, grup-3 IL-1 β düzeyinin grup-2 ve diğer gruplardaki IL-1 β düzeyine göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu bulunmuştur. İlaç grupları (grup-4 ve grup-5) ile ilaç verilmeyen gruplar (grup-2 ve grup-3) arası IL-1beta düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel ve matematiksel anlamda fark olduğu saptandı. Ek olarak grup-1 ile ilaç grupları (grup-4 ve grup-5) karşılaştırıldığında Myricetin etkisi ile IL-1beta seviyeleri baz değerlere yaklaşmıştır. Grup-4 ve grup-5 kendi aralarında değerlendirmeye alındığında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. IL-1beta'nın dokudaki değerlerine bakıldığında tüm grupların verileri birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklı tespit edildi. Özellikle yüksek doz ilaç verilen grup-5 te IL-1beta titrelerinin diğer gruplara nazaran istatistiksel ve matematiksel olarak anlamlı düşük olduğu saptandı. Long Sun ve ark. 2017'de Molecular Medicine Reports dergisinde yayınlanan "Ratlarda, orta serebral arter oklüzyonuna bağlı serebral iskemisinde Myricetin'in etkisi" başlıklı çalışmalarında, ratlara Myricetin uygulaması sonrası IL-1beta seviyelerinde anlamlı düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda IL-1 Beta değerinin düşmüş olması literatürle uyumludur. Sonuç olarak Myricetin IL-1beta aracılığı ile belirgin antiinflamatuvar etkinlik göstermiş fakat serumda ilacın yüksek/düşük doz uygulanması arasında belirgin fark yok iken hücresel boyutta yüksek doz Myricetin'in IL-1beta aracılığı ile belirgin antiinflamatuvar etki gösterdiği görülmüştür.

Total Antioksidan Status (TAS), antioksidan ortamda yüksek, oksidatif strese düşük seviyelerde seyrederek. Çalışmamızda serum ve doku TAS düzeylerinin Grup-1 ve Grup-5'teki ratlarda diğer gruplardaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. Yine elde ettiğimiz veriler ışığında en fazla oksidatif stresin grup-2 ve grup-3 te olduğu görüldü. Yüksek doz Myricetin verdiğimiz grup-5 te, düşük doz ilaç grubu olan grup-4 e göre daha fazla antioksidan yanıt alındığı ve grup-4 ve grup-5 arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğu görüldü. Sonuç olarak Myricetin'in uygulama dozu arttığında daha anlamlı antioksidan yanıt alındığı görülmüştür. Parthasarathy Nirmala ve Manickam Ramanathan 2011'deki çalışmalarında kolon tümörü taşıyan ratlarda, Myricetin'in katalaz ve glutatyon peroksidazı önemli ölçüde indüklediği ve güçlü antioksidan etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda Myricetin'in göstermiş olduğu antioksidan etki literatür ile uyumludur.

Total Oksidatif Status (TOS) antioksidan ortamda düşük oksidatif stres durumunda yüksek seviyelerde seyreder. Deneyimizde serumdan elde edilen TOS düzeyleri, Grup-1'deki ratlarda diğer gruplara göre anlamlı düşük, Grup-3'teki ratlarda ise istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi. Yine dokudan elde edilen TOS düzeyleri Grup-4 ve Grup-5'teki ratlarda Grup-2 ve Grup-3'teki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük, Grup-1'deki ratlara göre ise istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. Ek olarak grup-4 ve grup-5 ten elde edilen serum ve doku örnekleri kıyaslandığında, yüksek doz ilaç verilen grup-5 TOS değerleri ile düşük doz ilaç verilen grup-4 TOS değerleri arasında istatistiksel anlamda fark olduğu görüldü. Ulaş ve ark. 2023'te European Review for Medical and Pharmacological Sciences dergisinde yayınlanan bir çalışmalarında deneysel spinal kord hasarı sonrası ratlarda TOS seviyelerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda spinal kord travması sonrası gördüğümüz TOS seviyelerindeki yükselme literatür ile uyumludur.

Malondialdehit (MDA) hücrelerde çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. Serbest radikallerdeki artış, MDA'nın aşırı üretimine neden olur. Malondialdehit seviyesinin yüksek olması, oksidatif stres durumunun bir belirteci olarak bilinir. Çalışmamızda serumdan elde ettiğimiz MDA düzeyleri Grup-5'teki ratlarda diğer gruplardaki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı. Yine dokudan elde edilen MDA seviyeleri, Grup-1 ve Grup-5'teki ratlarda; Grup-2, Grup-3 ve Grup-4'teki ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Serum ve doku örneklerinden elde edilen sonuçlar birbirleri ile uyumlu bulundu. Yüksek doz ilaç verilen grup-5 ile düşük doz ilaç verilen grup-4 kendi aralarında kıyaslandığında MDA seviyelerinin grup-5 te istatistiksel anlamda düşük olduğu saptandı. Sonuç olarak Myricetin'in uygulama dozu arttığında, oksidatif stresin bir göstergesi olan MDA seviyelerini de baskıladığı kanısına varılabilir. Yine Long Sun ve ark. 2017'de Molecular Medicine Reports dergisinde yayınlanan "Ratlarda, orta serebral arter oklüzyonuna bağlı serebral iskemisinde Myricetin'in etkisi" başlıklı çalışmalarında, ratlara Myricetin uygulaması sonrası MDA seviyelerinde anlamlı düşüş görmüşlerdir.

Histopatolojik değerlendirmede dokular çıkarıldıktan sonra 2 gün %10'luk formaldehitte tespit edildi. Alkol takibinden sonra parafine gömüldü ve 4 mikronluk kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen Eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. Spinal kordun tüm örneklerinde, histopatolojik değişikliklerin (hemoraji, nekroz, akson dejenerasyonu, vakuol, nöron hasarı) tespiti gerçekleştirildi. Histopatolojik değişikliklerin derecesine göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak skorlandı. Maksimum skor 15 olarak belirlendi.

Grup-1'e göre diğer gruplarda anlamlı olarak TUNEL pozitif hücre sayısı ve apoptotik indeksin arttığı gözlemlendi. Grup-2 ve Grup-3'te ise TUNEL pozitif hücre sayısı ve apoptotik indeksin ortalaması istatistiksel olarak benzer olarak tespit edildi. Grup-4 ve Grup-5'te ilacın etkisi ile TUNEL pozitif hücre sayısı ve apoptotik indeksin anlamlı olarak Grup-2 ve Grup-3'e göre azaldığı tespit edildi. Grup-5'te diğer deney gruplarına göre en düşük apoptotik indeks tespit edildi. Yong Li ve ark. 2012 'de Food science ang Human Wellness de yayınlanan "Diabetes mellitus'ta Myricetin'in terapötik potansiyeli" adlı çalışmalarında Myricetin'in diyabetik ratlarda makrofajlardan IL-1beta salınımını belirgin azalttığı ve aynı zamanda anti-fas IgM'in neden olduğu apoptozu önlediğini göstermişlerdir. Çalışmamızda tedavi grubunda saptanan düşük apoptotik indeks literatürle uyumlu olduğunu saptadık.

Hematoksilen Eozin boyanan kesitlerde spinal kord hasarının en şiddetli olduğu grup, Grup-2 ve Grup-3 olarak gözlemlendi ve istatistiksel olarak ortalamaları benzer tespit edildi. Deney grupları arasında en düşük histopatolojik skor Grup-5'te ve daha sonra Grup-4'te tespit edildi. Hemoraji, nekroz, akson dejenerasyonu, gri maddede nötrofil vakuolizasyonu ve gri maddede nekrotik nöronlar gözlemlendi.

Deneyimizde 1 haftalık takip sürecinde klinik değerlendirmede kullandığımız Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) lokomotor derecelendirme ölçeği, torakolomber spinal kord hasarının sıçan modellerinde kullanılmak üzere geliştirilmiş 21 puanlık bir ölçektir. BBB, klinik iyileşmenin iki önemli özelliği olan yaralanma şiddetine ve/veya yaralanmadan sonraki süreye dayalı olarak iyileşme aşamalarını ayırt eder. Yüksek duyarlılığa, iyi test-tekrar teste ve değerlendirici içi güvenilirliğe ve güçlü geçerliliğe sahiptir. Spinal kord hasarından sonra gözlenen histopatolojik değişikliklerle korele olan tek lokomotor skaladır. Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. 1 hafta boyunca ilaç uygulanan grup-4 ve grup-5 in muayene sonuçlarında travma grubu olan grup-3 e göre anlamlı düzelme kaydedildiği görüldü. Lakin grup-4 ve grup-5 arasında kıyaslama yapıldığında ilaç dozunun klinik iyileşmede istatistiksel anlamda belirgin fark olmadığı görüldü. Deneyimizde 1 haftalık takip sürecince klinik değerlendirmede kullandığımız Modifiye Tarlov Skalası, arka ekstremit motor muayenesi için deneysel çalışmalarda sık kullanılan 6 parametrelilik, gözleme dayalı klinik bir testtir. Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü.

Her grupta modifiye tarlov skalası deney öncesi ve sonrası tekrar edildiğinden ve veriler bağımlı nonparametrik değişkenlerden oluştuğu için Wilcoxon Signed Ranks Test grup içi karşılaştırmalar uygulanmıştır. Gruplar kendi içlerinde değerlendirmeye alındığında grup-4 ve grup-5 te travma sonrası ilaç uygulaması ile kliniğin gözle görülür ölçüde iyiye gittiği, fakat bunun ilaç dozu ile pek ilgili olmadığı sonucuna varıldı.

Deneyimizde kullandığımız Myricetin molekülü, daha önce birçok farklı deneysel rat modelde kullanılmış ve elde ettiğimiz sonuçlar ile önceki bilimsel çalışmaların uyduğu görülmüştür.

Dajas ve ark. 2003 yılında Brazilian Journal of Medical and Biological Research de yayınlanan bir çalışmada Quarcetin türevi olan Myricetin'in nöroprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yasaman Taheri ve ark. 2020'de BMC Complementary Medicine and Therapies yayınlanan çalışmalarında Myricetin'in Alzheimer, Parkinson, Epilepsi ve Huntington Koresi'nde nöron rejenerasyonunda rol oynadığını beyan etmişlerdir.

Min Jiang ve ark. 2019'da Biomedicine & Pharmacotherapy yayınlanan bir çalışmalarında Myricetin'in kanser hücresi istilasını ve metastazı baskıladığını, kanser hücre döngüsü durdurduğunu, kanser hücrelerinin apoptozunu indüklediğini ve çoğalmasını engellediğini gösterilmişlerdir.

Guanghong Chen ve ark. 2021'de Phytomedicine dergisinde yayınlanan bir çalışmalarında Myricetin'in vasküler düz kas hücrelerinde neointimal hiperplaziyi inhibe ederek anti-aterosklerotik özellik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Seun Akindehin ve ark. 2018'de Nutrients dergisinde yayınlanan bir çalışmalarında Myricetin'in adipoz dokuda mitokondriyal gen ekspresyonu ile trigliserit yakımını artırdığını ve anti-obezite etkisi olduğunu beyan etmişlerdir.

Qi-Min Wang ve ark. 2016'da Neuroreport dergisinde yayınlanan çalışmalarında Myricetin'in öğrenme ve kognitif fonksiyonlarda rol alan hipokampustaki beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) seviyelerini artırdığını gözlemlemişlerdir.

Belirtilen antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptoik, nöroprotektif etkilerinin yanı sıra ayrıca literatürde Myricetin'in kullanıldığı ve antikanser, antidiyabetik, antitoksik özelliklerinin ortaya konulduğu çok sayıda bilimsel yayın bulunmaktadır. Çalışmamızda deney hayvanlarına Myricetin uygulaması sonrası antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptoik, nöroprotektif etkilerinin elde ettiğimiz veriler literatür ile paralellik göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda spinal kord travma rat modelinde Myricetin'in sekonder hasar üzerindeki iyileşme etkilerini araştırdık. Travma ile oluşan inflamatuvar süreci oksidan stresi biyokimyasal yöntemler ile, apoptoz ve doku hasarını histopatolojik inceleme ile, nörolojik muayeneyi gözleme dayalı fiziksel yöntemler ile test ettik.

Sonuç olarak ;

1. Myricetin, serum ve dokuda dozdan bağımsız olarak IL-10 seviyelerinde artışa sebep oldu.
2. Serum IL-1beta seviyelerinde ilaç dozundan bağımsız düşüş görülürken, doku örneklerinde yüksek doz ilaç grubunda IL-1beta seviyesinde anlamlı düşüş görüldü.
3. Myricetin'in uygulama dozu arttığında daha belirgin antioksidan yanıt oluşturarak TOS seviyesinde düşüşe, TAS seviyesinde yükselişe yol açtığı tespit edildi.
4. Yine Myricetin'in uygulama dozu arttığında oksidatif stresin güçlü belirteçlerinden olan MDA seviyelerinde anlamlı gerilemeye neden olduğu görüldü.
5. Histopatolojik incelemede Myricetin etkisi ile TUNEL pozitif hücre sayısı ve apoptotik indeksin azaldığı tespit edildi. Yüksek doz ilaç grubunda diğer deney gruplarına göre en düşük apoptotik indeks tespit edildi.
6. Klinik olarak Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) lokomotor derecelendirme ölçeği ve Modifiye Tarlov Skalası ile, travma sonrası Myricetin'in nörolojik muayenede bir miktar iyileşme gösterdiği görüldü.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler doğrultusunda biyokimyasal, histopatolojik ve nörolojik muayene sonuçlarını göz önüne aldığımızda Myricetin'in nöroprotektif etkisi olduğunu ancak klinik kullanım için daha fazla çalışmaya gereksinim olduğu kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Arnold PM, Citron BA, Ameenuddin S, et al. Caspase-3 inhibition is neuroprotective after spinal cord injury [abstract]. *J Neurochem* 2000
2. Akindehin S, Jung YS, Kim SN, Son YH, Lee I, Seong JK, Jeong HW, Lee YH. Myricetin Exerts Anti-Obesity Effects through Upregulation of SIRT3 in Adipose Tissue. *Nutrients*. 2018
3. Barbiellini Amidei C, Salmaso L, Bellio S, Saia M. Epidemiology of traumatic spinal cord injury: a large population-based study. *Spinal Cord*. 2022
4. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*. 1995
5. Beckman JS. Peroxynitrite versus hydroxyl radical: the role of nitric oxide in superoxide-dependent cerebral injury. *Ann NY Acad Sci* 1994
6. Bracken MB, Freeman DH, Hellenbrand K. Incidence of acute traumatic spinal cord injury in the United States, 1997
7. Brewer KL, Bethea JR, Yezierski RP. Neuroprotective effects of interleukin-10 following excitotoxic spinal cord injury. *Exp Neurol* 1999
8. Büyükkımacı S, Ofluoğlu E, Toplamaoğlu H. Spinal Kord Tarihi. *Sinir Sistemi Cerrahisi Derg*, 2008
9. Cardenas DD, Hoffman JM, Kirshblum S, McKinley W. Etiology and incidence of rehospitalization after traumatic spinal cord injury: a multicenter analysis. *Arch Phys Med Rehabil*. 2004
10. Chen G, Xu H, Wu Y, Han X, Xie L, Zhang G, Liu B, Zhou Y. Myricetin suppresses the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells and inhibits neointimal hyperplasia via suppressing TGFBR1 signaling pathways. *Phytomedicine*. 2021

11. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi A, et al. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/ reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001
12. Dai JL, Lin Y, Yuan YJ, Xing ST, Xu Y, Zhang QH, Min JK. Regulatory effect of neuroglobin in the recovery of spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.* 2019
13. Dajas F, Rivera-Megret F, Blasina F, Arredondo F, Abin-Carriquiry JA, Costa G, Echeverry C, Lafon L, Heizen H, Ferreira M, Morquio A. Neuroprotection by flavonoids. *Braz J Med Biol Res.* 2003
14. Di Carlo G, Autore G, Izzo AA, Maiolino P, Mascolo N, Viola P, Diurno MV, Capasso F. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. *J Pharm Pharmacol.* 1993
15. Ekşi E, Yalçın Cömert HS, Imamoğlu M, Alver A, Aydın Mungan S, Sarıhan H. Effects of myricetin on testicular torsion-detorsion injury in rats. *Andrologia.* 2020
16. Eldadah BA, Faden AI. Caspase pathways, neuronal apoptosis, and CNS injury. *J Neurotrauma* 2000
17. Erel Ö. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* 2005
18. Ersoy M, Kalkan A İ. Medulla Spinalis Anatomisi ve Yolları, Türkiye Klinikleri *J Med Sci* 1996
19. Erzurumlu R, Şenoğlu G, Ulupınar E. Nöroanatomi. Güneş Tıp Kitabevleri. Ankara; 2019.
20. Guha A, Tator CH. Acute cardiovascular effects of experimental spinal cord injury. *J Trauma* 1988

21. Gupta SC, Tyagi AK, Deshmukh-Taskar P, Hinojosa M, Prasad S, Aggarwal BB. Downregulation of tumor necrosis factor and other proinflammatory biomarkers by polyphenols. *Arch Biochem Biophys*. 2014
22. Jiang M, Zhu M, Wang L, Yu S. Anti-tumor effects and associated molecular mechanisms of myricetin. *Biomed Pharmacother*. 2019
23. John F. Ditunno Jr. MD, Michelle E. Cohen PhD, Walter W. Hauck PhD, Amie B. Jackson MD, Marca L. Sipski MD Recovery of upper-extremity strength in complete and incomplete tetraplegia: A multicenter study 2002
24. Koehler P J. Isaäc Van Deen and Benedikt Stilling: a controversy on the function of the spinal cord in the 19th century. 1992
25. Koyanagi I, Tator CH, Lea PJ. Silicone rubber microangiography of acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1993
26. Lapchak PA, Araujo DM, Song D, Neuroprotection by the selective cyclooxygenase-2 inhibitor SC-236 results in improvements in behavioral deficits induced by reversible spinal cord ischemia. *Stroke* 2001
27. Li M, Ona VO, Chen M, et al. Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience* 2000
28. Netter FH: *Beyin ve Omuriliğin Anatomisi*, The Netter Collection of Medical Illustration Nervous System, volume 1: Part 1: Anatomy and physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders, 2007
29. Nirmala P, Ramanathan M. Effect of myricetin on 1,2 dimethylhydrazine induced rat colon carcinogenesis. *J Exp Ther Oncol*. 2011
30. Olney JW. Excitatory Transmitter Neurotoxicity. *Neurobiology of Aging*, Vol. 15, No.2, 1994

31. Ong KC, Khoo HE. Biological effects of myricetin. *Gen Pharmacol.* 1997
32. Özer F, Arslantaş A, Dalbayrak S. *Temel Spinal Cerrahi Cilt 1.* İntertıp yayınevi. Ankara; 2016.
33. Qu X, Li Q, Song Y, Xue A, Liu Y, Qi D, Dong H. Potential of myricetin to restore the immune balance in dextran sulfate sodium-induced acute murine ulcerative colitis. *J Pharm Pharmacol.* 2020
34. Ramezani M, Darbandi N, Khodaghali F, Hashemi A. Myricetin protects hippocampal CA3 pyramidal neurons and improves learning and memory impairments in rats with Alzheimer's disease. *Neural Regen Res.* 2016
35. Randall J. Dumont, David O. Okonkwo, Subodh Verma, R. John Hurlbert, Paul T. Boulos, Dilantha B. Ellegala, Aaron S. Dumont. *Acute Spinal Cord Injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms.* *Clinical Neuropharmacology* Vol. 24, No. 5
36. Rhoney DH, Luer MS, Hughes M, et al. New pharmacologic approaches to acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy* 1996
37. Santhakumar AB, Bulmer AC, Singh I. A review of the mechanisms and effectiveness of dietary polyphenols in reducing oxidative stress and thrombotic risk. *J Hum Nutr Diet.* 2014
38. Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996
39. Song RB, Basso DM, da Costa RC, Fisher LC, Mo X, Moore SA. Adaptation of the Basso-Beattie-Bresnahan locomotor rating scale for use in a clinical model of spinal cord injury in dogs. *J Neurosci Methods.* 2016
40. Sun L, Xu P, Fu T, Huang X, Song J, Chen M, Tian X, Yin H, Han J. Myricetin against ischemic cerebral injury in rat middle cerebral artery occlusion model. *Mol Med Rep.* 2018

41. Tekiner AS, Tekiner A, Sargon MF. Effect of Propolis on Neurological Recovery After Experimental Spinal Cord Injury. *Turk Neurosurg.* 2021
42. Ulas M, Argadal OG. Trace element, antioxidant and oxidant levels in spinal cord injury: different perspective on the effects of valproic acid. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2023
43. Von Euler M, Li-LiM,Whitemore S, et al. No protective effect of the NMDA antagonist memantine in experimental spinal cord injuries. *J Neurotrauma* 1997
44. Wang LM, Yan Y, Zou LJ, Jing NH, Xu ZY. Moderate hypothermia prevents neural cell apoptosis following spinal cord ischemia in rabbits. *Cell Res.* 2005
45. Wang QM, Wang GL, Ma ZG. Protective effects of myricetin on chronic stress-induced cognitive deficits. *Neuroreport.* 2016
46. Yamazaki C, Ueda H, Yamazaki M. A hydroxyl group of flavonoids affects oral anti-inflammatory activity and inhibition of systemic tumor necrosis factor-alpha production. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004
47. Yang R, Cai X, Li J, Liu F, Sun T. Protective Effects of MiR-129-5p on Acute Spinal Cord Injury Rats. *Med Sci Monit.* 2019
48. Zhang S, Hu X, Guo S, Shi L, He Q, Zhang P, Yu S, Zhao R. Myricetin ameliorated ischemia/reperfusion-induced brain endothelial permeability by improvement of eNOS uncoupling and activation eNOS/NO. *J Pharmacol Sci.* 2019
49. Zhang T., Harstad L., Parisi J. E., Murray M.J. The size of the anterior spinal artery in relation to the arteria medullaris magna anterior in humans.1995
50. Zhang Y, Al Mamun A, Yuan Y, Lu Q, Xiong J, Yang S, Wu C, Wu Y, Wang J. Acute spinal cord injury: Pathophysiology and pharmacological intervention (Review). *Mol Med Rep.* 2021