

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMA MODELİNDE HESPERİDİN'İN
İNFLAMASYON VE OKSİDATİF HASAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

DR MEHMET KENAN

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2019

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMA MODELİNDE HESPERİDİN'İN
İNFLAMASYON VE OKSİDATİF HASAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

DR MEHMET KENAN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN: PROF. DR. AHMET ÖNDER GÜNEY

KONYA, 2019

III. TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması 181518024 proje no ile Necmettin Erbakan Üniversitesi bilimsel araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün (BAP) desteği ile yapılmıştır.

Uzmanlık eğitimim sırasında bana her konuda desteği olan Prof. Dr. Yalçın Kocaoğullar, Prof. Dr. Ahmet Önder Güney, Prof. Dr. Erdal Kalkan, Doç. Dr. Fatih Keskin, Doç. Dr. Mehmet Fatih Erdi, Doç. Dr. Bülent Kaya, Dr. Öğr. Üyesi Densel Araç ve, Uzman Doktor Yaşar Karataş hocalarıma teşekkür ederim.

Uzmanlık tezimde emeği geçen Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Kılınç, Dr. Öğr. Üyesi Sıddıka Fındık hocalarıma teşekkür ederim.

Beni nöroşirurji ihtisasına yönlendiren ve bu süre içinde desteğini esirgemeyen eşim Nazlı'ya teşekkür ederim. İhtisasımın son günlerinde aramıza katılan, varlığı ile neşemizi katbekat artıran, gözümün nuru biricik kızım İrem'e verdiği yaşam enerjisi için teşekkür ederim.

Bu günlere gelmeme vesile olan sevgili annem ve babama ayrıca teşekkür ederim.

Aralık, 2019

Dr. Mehmet Kenan

IV. ÖZET

DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMA MODELİNDE HESPERİDİN'İN İNFLAMASYON VE OKSİDATİF HASAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

MEHMET KENAN

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2019

Amaç: Bu çalışmada hesperidinin spinal kord travmasında (SKT) sekonder hasar üzerine olan etkilerini inceledik.

Yöntem: 45 adet Wistar albino cinsi rat 5 gruba randomize edildi. Spinal kord yaralanması ağırlık düşürme modeliyle gerçekleştirildi.

1. Grup sham grubu seçildi ve deneyin 7. günü kan ve doku örnekleri alındı.
2. grup ratlara 1. gün laminektomi uygulandı. Ağırlık düşürülerek kord hasarı oluşturuldu. Deneyin 7. günü kan ve doku örnekleri alındı.
3. grup ratlara 1. gün laminektomi uygulandı. Ağırlık düşürülerek kord hasarı oluşturuldu. İntraperitoneal 50 mg/kg %0,9 serum fizyolojik (SF) uygulandı. Deneyin 7. günü kan ve doku örnekleri alındı.
4. grup ratlara 1. gün laminektomi uygulandı. Ağırlık düşürülerek kord hasarı oluşturuldu. İntraperitoneal 50 mg/kg hesperidin uygulandı. Deneyin 7. günü kan ve doku örnekleri alındı.
5. grup ratlara 1. gün laminektomi uygulandı. Ağırlık düşürülerek kord hasarı oluşturuldu. İntraperitoneal 100 mg/kg hesperidin uygulandı. Deneyin 7. günü kan ve doku örnekleri alındı.

Deneyin 1. ve 7. günlerinde anestezi öncesinde ratların alt ekstremite motor muayeneleri için Drummond Moore testi ve eğik düzlem testi uygulanmıştır.

Ratlardan elde edilen spinal kord dokusu ve kandan, tümör nekrozis factor alfa (TNF- α), interlökin 10, TAS (total antioksidan status), TOS (total oksidatif stres), TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) seviyeleri enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile Tıbbi Biyokimya AD Araştırma Laboratuvarında çalışıldı. Fakültemiz

Patoloji AD laboratuvarında ise sıçanlardan elde edilen hemikord kesitleri Hematoksilen-Eozin (H-E) boyası ve histokimyasal MTK (Masson Trikrom) boyası kullanılarak patoloji laboratuvarında ışık mikroskobu altında incelendi ve gözlemlenen patolojiler Malinowsky ve arkadaşları tarafından tanımlanan skorlamaya göre tasnif edildi. Ayrıca Tunel yöntemi kullanılarak apoptoz değerlendirildi.

Bulgular: Serum TNF α , TAS ve TOS düzeylerinde gruplar arasında farklılık saptanmazken ($p>0,05$), serum IL-10, TBARS, OSI (oksidatif stres indeksi) ve spinal kord dokusuna ait TNF α , IL-10, TAS, TOS, TBARS ve OSI düzeylerinde hesperidinin antiinflatuar ve antioksidan özelliğini destekleyici nitelikte anlamlı bulgular elde edildi ($p<0,05$). Histopatolojik olarak doku hasarını gösteren Malinowsky skorlaması istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı ($p>0,05$). Tunel testi ise hesperidin lehine gruplar arası anlamlı farklılık gösterdi ($p<0,05$). Nörolojik muayeneyi değerlendirdiğimiz eğik düzlem testi ve Drummond Moore testi tüm gruplarda hesperidin lehine istatistiksel anlamlı fark oluşturmuştur ($p<0,05$).

Sonuç: Çalışmamızdan elde ettiğimiz biyokimyasal, histopatolojik ve nörolojik muayene sonuçları ışığında, hesperidin sekonder spinal kord hasarı üzerinde antiinflatuar, antioksidan ve antiapoptotik etkinlik göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Hesperidin, spinal kord, travma, deneysel, rat, sekonder yaralanma

V. ABSTRACT

EFFECT OF HESPERIDIN ON INFLAMMATION AND OXIDATIVE DAMAGE IN EXPERIMENTAL SPINAL CORD TRAUMA MODEL

MEHMET KENAN
SPECIALIST THESIS
KONYA, 2019

Aim: In this study, we investigated the effects of hesperidin on secondary injury in spinal cord trauma.

Material and methods: 45 Wistar albino rats were randomized into 5 groups. Spinal cord injury was performed with weight drop model.

Group 1, sham group was selected and blood and tissue samples were taken on the 7th day of the experiment.

Group 2, rats underwent laminectomy on the first day. Cord damage was created by dropped weight. Blood and tissue samples were taken on the 7th day of the experiment.

Group 3, rats underwent laminectomy on the first day. Cord damage was created by dropped weight. Intraperitoneal 50 mg / kg 0.9% SF was administered. Blood and tissue samples were taken on the 7th day of the experiment.

Group 4, rats underwent laminectomy on the first day. Cord damage was created by dropped weight. 50 mg / kg hesperidin was administered intraperitoneally. Blood and tissue samples were taken on the 7th day of the experiment.

Group 5, rats underwent laminectomy on the first day. Cord damage was created by dropped weight. 100 mg / kg hesperidin was administered intraperitoneally.

Blood and tissue samples were taken on the 7th day of the experiment. Drummond Moore test and inclined plane test were performed for the lower extremity motor examinations of rats before anesthesia on the 1st and 7th days of the experiment.

Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 10, TAS (total antioxidant status), TOS (total oxidative stress), TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) levels from spinal cord tissue and blood obtained from rats performed with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method in the Department of Medical Biochemistry Research.

In the Department of Medical Pathology Research hemicord sections obtained from rats were examined under light microscope using hematoxylin eosin staining and histochemical MTK staining and the pathologies observed were classified according to the scoring defined by Malinowsky et al. Apoptosis was also evaluated using TUNEL method.

Results: While serum TNF α , TAS and TOS levels were not different between the groups ($p > 0,05$), in serum IL-10, TBARS, OSI and TNF α , IL-10, TAS, TOS, TBARS and OSI levels of spinal cord tissue, significant findings were obtained supporting the anti-inflammatory and antioxidant properties of hesperidin ($p < 0,05$). Malinowsky scoring, which histopathologically indicates tissue damage, made no statistically significant difference ($p > 0,05$). TUNEL test showed significant differences between groups in favor of hesperidin ($p < 0,05$). Inclined plane test and Drummond Moore test, which evaluated the neurological examination, found statistically significant difference in favor of hesperidin in all groups ($p < 0,05$).

Conclusion: Based on the biochemical, histopathological and neurological examination results obtained from our study, hesperidin shows anti-inflammatory, antioxidant and anti-apoptotic efficacy on secondary spinal cord injury.

Keywords: Hesperidin, spinal cord, trauma, experimental, rat, secondary injury

VI. İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
TEZ METNİ.....	1
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Spinal Kord Travması ve Modelleri Tarihiçesi.....	2
2.2. Spinal Kord Embriyolojisi.....	3
2.3. Spinal Kord Anatomisi.....	5
2.4. Spinal Kord Hasarı.....	8
2.4.1. Etyoloji ve Epidemiyoloji.....	8
2.4.2. Fizyopatoloji.....	10
2.4.2.1. Primer Yaralanma.....	11
2.4.2.2. Sekonder Yaralanma.....	12
2.4.2.2.1. Nörojenik Şok.....	12
2.4.2.2.2. Kanama ve İskemi – Reperfüzyon.....	12
2.4.2.2.3. Eksitotoksisite.....	14
2.4.2.2.4. Kalsiyum Aracılı Sekonder Yaralanma ve Sıvı-Elektrolit Bozuklukları.....	15
2.4.2.2.5. İmmünolojik Hasar.....	17
2.4.2.2.6. Apoptoz.....	18
2.5. Hesperidin.....	20
2.5.1. Hesperidin'in Kimyasal Yapısı.....	20
2.5.2. Hesperidin Kaynakları.....	20
2.5.3. Hesperidin'in Farmakokinetiği.....	20
2.5.4. Hesperidin Biyoaktivitesi.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Malinowsky ve Ark. Tarafından Tanımlanan Skorlama.....	25

3.2.Drummond Moor Testi	26
3.3. Eğik Düzlem Testi	26
3.4 İstatistiksel Analiz.....	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. Serum Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	28
4.1.1. Serum IL-10.....	29
4.1.2. Serum TNF α	30
4.1.3. Serum Total Antioksidan Status (TAS).....	31
4.1.4. Serum Total Oksidatif Stres (TOS).....	32
4.1.5. Serum Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS).....	33
4.1.6. Serum Oksidatif Stres İndeks(OSI).....	34
4.2. Doku Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	36
4.2.1. Doku IL-10	37
4.2.2. Doku TNF α	38
4.2.3. Doku Total Antioksidan Status (TAS).....	39
4.2.4. Doku Total Oksidatif Stres (TOS).....	40
4.2.5. Doku Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS).....	41
4.2.6. Doku Oksidatif Stres İndeks (OSI).....	42
4.3. Histopatoloji Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	44
4.3.1. Malinowsky Skoru.....	47
4.3.2. Tunel Yüzdesi.....	47
4.4. Fiziksel Test Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	49
4.4.1. Eğik Düzlem Testi.....	50
4.4.2. Drummond Moore Testi.....	51
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR.....	63

V. TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Yaralanma Şiddeti ve Yaralanma Yaşına Göre Yaralanma Sonrası Yaşam Beklentisi (Yıl).....	10
Tablo 2. Malinowsky Skoru	25
Tablo 3. Drummond Moor Testi	26
Tablo 4. Serum Biyokimya Verileri.....	28
Tablo 5. Serum IL-10 Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	28
Tablo 6. Serum TNF α Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	30
Tablo 7. Serum TAS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	31
Tablo 8. Serum TOS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	32
Tablo 9. Serum TBARS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	33
Tablo 10. Serum OSI Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	34
Tablo 11. Serum Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	35
Tablo 12. Doku Biyokimya Verileri.....	36
Tablo 13. Doku IL-10 Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	37
Tablo 14. Doku TNF α Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	38
Tablo 15. Doku TAS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	39
Tablo 16. Doku TOS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	40
Tablo 17. Doku TBARS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	41
Tablo 18. Doku OSI Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	42
Tablo 19. Doku Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	43
Tablo 20. Histopatoloji Verileri.....	46
Tablo 21. Malinowsky Skoru Aritmetik Ortalama Değerleri.....	47
Tablo 22. Tunel Yüzdesi Aritmetik Ortalama Değerleri.....	47
Tablo 23. Fiziksel Test Verileri.....	49

VI. GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Spinal Kord Travma Nedenleri.....	8
Grafik 2. Spinal Kord Travma Sonrası Nörolojik Sonuçlar.....	9
Grafik 3. Serum IL-10 Dağılım Analizi.....	29
Grafik 4. IL-10 Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	29
Grafik 5. Serum TNF α Dağılım Analizi.....	30
Grafik 6. TNF α Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	30
Grafik 7. Serum TAS Dağılım Analizi.....	31
Grafik 8. TAS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	31
Grafik 9. Serum TOS Dağılım Analizi.....	32
Grafik 10. TOS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	32
Grafik 11. Serum TBARS Dağılım Analizi.....	33
Grafik 12. TBARS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	33
Grafik 13. Serum OSI Dağılım Analizi.....	34
Grafik 14. OSI Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	34
Grafik 15. Doku IL-10 Dağılım Analizi.....	37
Grafik 16. IL-10 Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	37
Grafik 17 Doku TNF α Dağılım Analizi.....	38
Grafik 18. TNF α Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	38
Grafik 19. Doku TAS Dağılım Analizi.....	39
Grafik 20. TAS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	39
Grafik 21. Doku TOS Dağılım Analizi.....	40
Grafik 22. TOS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	40
Grafik 23. Doku TBARS Dağılım Analizi.....	41
Grafik 24. TBARS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	41
Grafik 25. Doku OSI Dağılım Analizi.....	42
Grafik 26. OSI Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri.....	42
Grafik 27. Malinowsky Skoru Aritmetik Ortalama Değerleri.....	47
Grafik 28. Tunel Yüzdesi Aritmetik Ortalama Değerleri.....	47
Grafik 29. Eğik Düzlem Testi Grafiği.....	50
Grafik 30. Drummond Moore Testi Grafiği.....	52

VII. RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Deneyde kullanılan el aletleri.....	24
Resim 2. Deneyin 1. günü Allen yöntemi ile spinal travma oluşumu.....	24
Resim 3. Deneyin 7. günü fiziksel gözlem.....	24
Resim 4. Eğik düzlem testi.....	26
Resim 5. Histopatolojik inceleme, Malinoswky skoru 0.....	44
Resim 6. Histopatolojik inceleme, Malinowsky skoru 1.....	44
Resim 7. Histopatolojik inceleme, Malinowsky skoru 2.....	45



VIII. SİMGELER VE KISALTMALAR

AMPA: α -amino 3 hydroxy 5 methylisoxazole 4 propionate

COX: Siklooksijenaz

H-E: Hemotoksilen-Eosin

ICAM: Intercellular adhesion molecule

IL: İnterlökin

IM: İntramusküler

IP: intraperitoneal

MDA: Malondialdehit

mRNA: Messenger ribonucleic acid

MTK: Masson trikrom

NMDA: N-methyl-D-aspartate

NSCISC: National spinal cord injury statistical center - Ulusal spinal kord injuri istatistik merkezi

OSI: Oksidatif stres indeks

PPAR: Peroksizom proliferatör aktive edilmiş reseptör

ROS: Reactive oxygen species

SF: Serum Fizyolojik

SKT: Spinal kord travması

SSS: Santral Sinir Sistemi

TAS: Total antioksidan status

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances

TNF : Tümör nekrozis faktör

TOS: Total oksidan stres

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling

TEZ METNİ

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Spinal kord, santral sinir sisteminin (SSS) bir parçası olup, gelen iletileri periferik sinir sistemini kullanarak organlara ve ekstremitelere iletir. Anatomik olarak kemik muhafaza içinde olmasına karşın gelişen teknoloji ile birlikte kazalarda artan yaralanma oranları ile birlikte spinal kord hasarı prevalansı da artmaktadır.

Travmaya sekonder gelişen spinal kord yaralanması, morbiditesi ve mortalitesi yüksek bir yaralanma türü olup etkilenen kişi ve yakınları üzerinde sosyal, ekonomik ve psikolojik tahribata neden olmaktadır. Travma sıralamasında halen trafik kazaları önemini korumaktadır.

Travma sonrası primer spinal kord hasarının bilinen standard bir tedavisi yoktur. Oluşan anatomi hasarı veya mikro düzeyde oluşan doku bütünlük kaybı cerrahi veya medikal yöntemlerle giderilememektedir. Ancak travmanın ilk dakikalarında görülmediği halde ilerleyen saatler ve günlerde ortaya çıkan sekonder hasar, önlenmesi halinde morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde etkileyen bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Sekonder spinal kord hasarı patofizyolojisinden yola çıkarak, hesperidin molekülü antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik özellikler barındırması ve etkenin kan beyin bariyerini geçebilmesi nedeni ile çalışmamızda yer almıştır.

Çalışmamızda 5 grup halinde toplam 45 adet sıçan kullanılmıştır. Modifiye Allen ağırlık düşürme yöntemi ile deney uygulanmış, travma sonrası ilaç gruplarına intraperitoneal hesperidin uygulanmış ve 7 gün sonunda hasarlı kord bölgesi biyokimya ve patoloji laboratuvarlarında incelenmek üzere çıkartılmıştır. Deney intrakardiyak kan alınarak sonlandırılmış. Alınan kan ve doku örneklerinde antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkinliğine bakılmıştır.

Bu çalışmanın amacı; hesperidin, sekonder spinal kord hasarlanma mekanizmasına katkısını incelemek ve bu konuda yapılacak diğer çalışmalara ışık tutmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spinal Kord Travması ve Modelleri Tarihçesi

Omurilik travmaları ve yaralanmaları ile ilgili en eski yazılı kaynaklar Mısırlılar zamanına dek uzanmaktadır. 1930 yılında tercüme edilen M.Ö 2000-3500 yıllarında yazıldığı düşünülen Edwin Smith Papürüsü'nde bu konuyla ilgili bilgilere rastlanmıştır.

“Boynunda bir çıkığı olup kollarını ve bacaklarını fark etmeyen, ereksiyon ve spontan ejakulasyonu olan, idrarını damla damla yapan, gözleri kızarmış, eti rüzgarlanmış olgu umutsuz olgudur, tedavisi başarılamaz” şeklinde bir ifade yer almaktadır (Hughes 1988).

M.Ö 460-375 yılları arasında yaşamış olan, İstanköy adası doğumlu Hippocrates, spinal kord yaralanması konusunda bazı bilgiler ortaya koymuştur. Bu konudaki en önemli katkılarından biri ise spinal fraktürlerde dislokasyonları redüksiyon için kullandığı özel traksiyon masasıdır. Galen spinal kordun anatomik ve fizyolojik fonksiyonları üzerine yaptığı deneysel çalışmalarla ortaya çıkmıştır. Aslen eczacılığın babası olarak da kabul edilen Galen spinal kordun detaylı makroskobik anatomisi üzerine yeni tanımlamalar ortaya koymuştur. Domuz, maymun gibi hayvanlar üzerinde yaptığı diseksiyonlarla, özellikle spinal kordun koruyucu yapılarla çevrelendiğini vurgulamış, kemik yapılar, longitudinal ligamanlar, duramater ve piamateri tarif etmiştir. Spinal kordu farklı düzeylerde keserek nörolojik açıdan karşılaştırmalı deneyler yapmıştır. Ayrıca lordoz, kifoz, skolyoz gibi tanımları yapan Galen, Hippocrates'den sonra antik tıbbın en önemli ismidir (Büyükkinacı ve ark 2008).

Milattan sonra 625-690 yılları arasında yaşamış olan Aeginalı Paulus' un spinal kord travmalarının tedavisinde yapmış olduğu katkılar bugün halen geçerliliğini korumaktadır. Paulus spinal fraktür sonrası korda bası yapan posterior elemanları kaldırarak ilk laminektomi girişimini yapan hekimdir. Ayrıca spinal fraktürlerin redüksiyonundan sonra yaptığı bandaj ve korse sistemleri modifiye olmakla beraber günümüzde halen geçerliliğini korumaktadır (Büyükkinacı ve ark 2008).

Omuriliğin seri kesitleri üzerinde ilk çalışmayı Benedikt Stilling 1842'de gerçekleştirmiştir. İlk kez spinal şok terimini Marshall Hail 1850'de kullanmıştır. Sinir sistemi cerrahisi üzerine ilk kitabı Ernst von Bergmann 1870'de yazmıştır. Spinal kord

travması ile ilgili ilk fizyopatolojik çalışma 1890'de Schamus tarafından tavşanlar üzerinde yapılmıştır (Koehler ve ark 1992).

Günümüze kadar insan omurilik yaralanmasını taklit edebilecek birçok deneysel travma modeli tasarlanmıştır. Allen'in 1911'de tanımladığı laminektomi sonrası ağırlık düşürme metodu bu alanda fenomen olmuş ve hem primer hem de sekonder hasar üzerinde çalışma yapabilmemize olanak sağlamıştır. 1978 yılında Tator ve Rivlin klip kompresyon modelini tanımlamış ve bu şekilde spinal kord belirli zaman dilimlerinde anevrizma klipleri ile komprese edilerek farklı derecelerde travma oluşturulabilmiştir (Dohrmann 1972).

2.2. Spinal Kord Embriyolojisi

Zigot gelişimin 2.haftasında 2 tabaka halini alır. Dışta trofoblastlar içte emriyoyu oluşturacak kısım yer alır. Bu kompleks yapıya "blastosist" denir. 2. haftada blastosist endometrium stromasına yerleşir ve embriyoyu oluşturacak olan iç tabaka 2 laminalı embriyo diskini oluşturur. Bilaminar embriyo diski epiblast ve hipoblastlara dönüşür (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

Gastrulasyon gelişimin 3. haftasında görülür. Bilaminar embriyo diski üzerinde epiblastların bulunduğu tabakada 15-16. günlerde primitif çizgi belirgin hale gelir. Primitif çizginin sefalik ucu primitif düğümü oluşturur. Epiblastlar primitif oluktan içeriye göç ederek önce hipoblastları sonra intraembriyonik mezodermi oluştururlar. Bu göç hareketine "invajinasyon" denir. Bu aşamadan sonra dış tabakada bulunan epiblastlara ektoderm, orta tabakaya mezoderm, iç tabakada bulunan hipoblastlara endoderm denir. Sinir sisteminin tamamı ektodermden kaynaklanır. Aynı zamanda ektoderm epidermis, tırnak, saç ve ekzokrin bezlere de kaynak oluşturur (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

Nörilasyon nöral plağın nöral tüpe dönüşme sürecidir ve 28. gün kaudal nöroporun kapanması ile sonlanır. Primitif düğüm etrafında prokordal hücre olarak farklılaşan ektoderm hücreleri primitif çukurdan invajine olur ve mezodermal alan içinde notokord uzantısı adı verilen tüp şeklinde bir yapı oluştururlar. Embriyo sagittal kesitlerine bakıldığında kranial uçtan kaudal uza kadar notokordun tüp şeklinde ilerlediği görülür. Notokord oluşturduğu nörostimülanlar nedeni ile nöral oluğun ve sonrasında nöral tüpün oluşmasında önemlidir (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

Notokord gelişirken üzerindeki ektodermi indükler. Ektoderm germ yaprağı kranial uçta geniş, kaudalde daha dar şekilde bir disk şeklini alır ve böylece ektoderm kalınlaşarak nöral plak oluşur. Nöralasyon olayı bu şekilde başlamış olur. Nöral plak notokorda doğru kranial uçtan kaudal uca doğru oluk şeklinde çöker. Bu yapıya sulkus nöralis denir. Sulkus nöralisin ektoderm ile birleştiği yerdeki hücreler farklılaşır ve krista nöralis adını alır. Krista nöralis daha sonra periferik sinir sistemini, melanositleri, böbrek üstü bezlerindeki kromaffin hücrelerini ve kalp kapakçıklarını oluşturur (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

Sulkus nöralis occipital 4. somit bölgesinden itibaren kapanarak tüp şeklini alır. Kapanma kranial uçta 23-25. günde, kaudal uçta 27-28. günde tamamlanır. Kapanma sonrasında amnion sıvısı ile olan bağlantı sona ermiş olur. Nöral tüpün geniş olan kranial bölgesinden beyin kesecikleri, dar olan kaudal bölgesinden ise medulla spinalis gelişir (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

İntraembriyonik mezoderm, başlangıçta orta hattın her iki yanında ince ve gevşek yapıda bir tabaka olarak izlenirken, notokord ve nöral tüp gelişiminde 17. gün dolaylarında mezoderm hücreleri çoğalarak kalınlaşır ve paraksiyel mezoderm adını alır (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

Her bir paraksiyel mezoderm yanlara doğru ara mezoderm ve lateral mezoderm olarak devam eder. Zamanla lateral mezoderm içinde küçük boşluklar oluşur ve bu boşluklar birleşerek intraembriyonik kölom adı verilen çift yapıda cisimlere ayrılmaya başlar. İlk somit çifti, 20. günde embriyonun servikal yöresinde dikkati çeker ve kraniokaudal yönde ilerleyerek 5. haftanın sonuna kadar her gün 3 çift olmak üzere 42 – 44 çift oluşur. Bunlar 4 oksipital, 8 servikal, 12 torakal, 5 lumbar, 8-10 koksigeal çift somitlerdir. İlk oksipital ve son 5-7 koksigeal somit kaybolur. Kalan somitler embriyonun aksiyel iskeletini oluşturur (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

Medulla spinalis, 4. çift somitin kaudalinde kalan nöral tüpten gelişir. 9. ve 10. haftalarda nöral tüpün duvarları kalınlaşır ve genişliği küçülerek santral kanalı oluşturur. Nöral tüp içinde içten dışa doğru 3 hücre grubu görülür; ventriküler, intermediate ve marginal tabaka (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

Marjinal tabaka spinal gangliyonlar ve beyin içinden çıkan aksonların oluşmasıyla medulla spinalisin beyaz cevherini oluşturacaktır. SSS'nin ilkel destekleyici hücreleri glioblastlar, nöroblastlar oluştuktan sonra nöroepitelden farklılaşarak oluşurlar ve ventriküler tabakadan intermediet ve marginal tabakaya göç ederler. Bazı hücrelerden ilerde astrositleri oluşturmak üzere astroblastlar, bazılarında ise oligodentrositleri oluşturmak üzere oligodentroblastlar oluşur. Nöroblast ve glioblastları oluşturmuş nöroepitel hücreler daha sonra santral kanalı döşeyen ependim hücreleri oluşur. 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. Bu plaklar medulla spinalis boyunca oluşan longitudinal şişkinliklerin sebebidir. (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

Alar plaklar dorsal gri kolonları oluşturur. Bu kolonlardaki nöronlar afferent nükleuslardan oluşur. Bazal plaktaki hücre gövdeleri ise ventral gri kolonları ve lateral gri kolonları oluşturur. Bazal plaklar gelişirken ventral şişkinliklerin arasında kalan bölgenin ventral kısmına bakan yüzünde ise ventral median fissür adı verilen derin bir oluk oluşur (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

Spinal gangliyonları meydana getiren hücreler, T biçiminde unipolar nöronlar nöral krestten oluşurlar. Nöronların her iki uzantısı aksonal özellik gösterir fakat, periferik uzantıda sinyal hücre gövdesine iletildiği için dentrit olarak görev yapmaktadır. Periferik uzantılar spinal sinirlere doğru ilerleyerek duysal sonlanmalar yaparlar. Santral uzantılar ise spinal sinirlerin dorsal köklerinden medulla spinalise girer (Özer ve ark 2016, Erzurumlu ve ark 2019).

2.3. Spinal Kord Anatomisi

Medulla spinalis vertebraların cisimleri ile arkusları arasında bulunan “canalis vertebralis” denen kanalın içerisinde bulunur ve atlasın üst kenarından başlayarak erkeklerde 1. ve 2. lumbal vertebralar arasında, kadınlarda 2. lumbal vertebranın ortasına kadar uzanır (Ersoy 1996). Uzunluğu ortalama 45 cm kadardır ve ortalama 28 gr ağırlığındadır (Erzurumlu ve ark 2019). Medulla spinalisi saran membranlar beyni saran membranların devamıdır. En dışta dura mater, ortada araknoid mater, içte pia mater

bulunur. Dura ve araknoid membranlar 2. sakral vertebra seviyesinde sonlanır. Pia mater medulla spinalis alt ucunda kapanır ve sonrasında filum terminale yapısına katılır. Filum terminale sakral 2. vertebra seviyesinde dura mater ile birleşerek lig. coccygeum adını alır ve koksikse yapışarak sonlanır. Piamater ise medulla spinalis içine doğru ilerleyen septalar aracılığıyla dural bağlantı oluşturur (Erzurumlu ve ark 2019).

Ligamentum denticulatum adı verilen bu bağlantılar 22 adet olup, lateral yüzey boyunca ilerleyerek noktasal çıkıntılarla duranın iç kısmına bağlanır. Medulla spinalis alt ucuna conus medullaris adı verilir. Lomber ve sakral lifler conus medullaristen sonra at kuyruğu anlamına gelen cauda equina lifleri ile dura içinde ilerleyerek kendi segmentlerinde nöral foramenlerinden ayrılır (Erzurumlu ve ark 2019).

Medulla spinalis ön yüzünde yukarıdan aşağıya doğru uzanan fissura mediana anterior denen derin bir yarık, arka yüzünde sulcus medianus posterior denen yüzeysel bir oluk görülür. Anterolateralinde kalan yüzeysel oluğa sulcus lateralis anterior, posterolateralinde kalan oluğa sulcus lateralis posterior denir. Sulcus lateralis anteriordan ön kökler ayrılırken, sulcus lateralis posteriordan arka kökler medulla spinalise dahil olurlar. Servikal kısımda sulcus medianus posterior ve sulcus lateralis posterior arasında sulcus intermedius posterior adı verilen üçüncü bir oluk daha görülür (Netter 2007).

Medulla spinalis içinde makroskopik olarak net sınırlarla ayrılan gri ve beyaz cevher bölgeleri bulunur. Gri cevher; nöron hücre gövdeleri, dentritleri, ve akson sonlanma yerlerini içerir. Gri cevher önde boynuz şeklinde iki adet çıkıntı oluşturur. Bunlara cornu anterius adı verilir. Benzer çıkıntılar arka kısımda bulunur ve cornu posterius adını alır. (Netter 2007).

Her iki taraftaki ön ve arka boynuzları birleştiren gri cevher kitlesine ise pars intermedia denir. Servikal ve torakal bölgelerde ön boynuzların kaidesinden yanlara doğru uzanan üçüncü bir çıkıntı daha görülür ve cornu laterale adını alır. Gri cevher ortasında canalis centralis bulunur. Beyaz cevher inen ve çıkan yolaklarda bulunan nöron aksonlarını içerir. Beyaz cevher içinde aynı zamanda nöroglialar ve kan damarları bulunur. Myelinli lif oranı yüksek olduğu için beyaz renklidir. Gri ve beyaz cevher alanları omurilik seviyelerine göre değişiklik gösterir. Servikal bölgede beyaz cevher daha geniş olup alt seviyelerde hacmi giderek azalır. Gri cevher ise servikal ve lomber genişlemelerde en fazla

gelişmiş olup buralar ekstremitelerin motor ve duysal işlevlerine katılan nöronlardan yapılmıştır. Bu genişlemeler *intumescentia cervicalis* ve *intumescentia lumbosacralis* adı verilen fuziform genişlemelerdir (Netter 2007).

Beyaz cevher içinde seyreden lifler fonksiyon olarak ya *medulla spinalis*'in değişik segmentlerini birbirine bağlayan kısa lifler ya da çeşitli *medulla spinalis* segmentlerinin beyin ile bağlantısını oluşturan uzun liflerdir. Aynı fonksiyonu gören lifler birbirine yakın seyrederek traktusları oluştururlar ancak bu traktusların sınırları makroskopik olarak belirgin değildir. Kısa yolaklar gri cevhere yakın seyrederken uzun yolaklar gri cevhere uzak yerleşimlidir. Uzun yolaklar (traktus) afferent ve efferent olarak ikiye ayrılır. Afferent traktuslar spinal gangliyonlardaki ya da *medulla spinalis*'in gri cevherindeki hücre uzantılarından oluşur. Efferent yollar ise beynin çeşitli kısımlarındaki çekirdeklerde bulunan hücrelerin uzantılarından oluşur. Afferent traktuslar yukarıya çıktıkça bütün *medulla spinalis* segmentlerinden lif alacağından giderek kalınlaşır. Efferent lifler kaudale uzandıkça segmentlere lif göndereceği için giderek inceler (Netter 2007).

Beyaz cevhere ait *funiculus anterolateralis*te üst segmente ait lifler merkeze daha yakın seyrederken, alt segmente ait lifler daha lateralde seyreder. *Funiculus posterior*da ise içte sakral lifler dışta servikal lifler bulunur (Netter 2007).

Omuriliğin beslenmesi *arteria vertebralis*'in dalları olan 1 adet anterior spinal arter, 2 adet posterior spinal arter ve radiküler arterler sayesinde olur (Fehlings ve ark 1999). Anterior spinal arter, *arteria vertebralis*lerden köken alarak, *fissura mediana anterior*da, konus medullaris kadar inerek *filum terminale* ve *kauda equina*ya kadar uzanan liflere ayrılarak vasküler beslemeyi sağlar. Posterior spinal arterler ise omurilik arka kısmında yer alan *sulcus posterolateralis* içinde seyreder. Bu bölgeden aşağı inerken de radiküler arterlerin arka dalları ile anastomozlar oluşturur. Radiküler arterlerin en büyüğü orta torakal bölgenin altında lumbosakral omurilik segmentinin ön kısmını besleyen *arteria radicularis magna* (Adamkiewicz arteri) olup T9-L2 arasında, %75-80 sol interkostal lomber arterden köken alan arterdir (Zhang ve ark 1995).

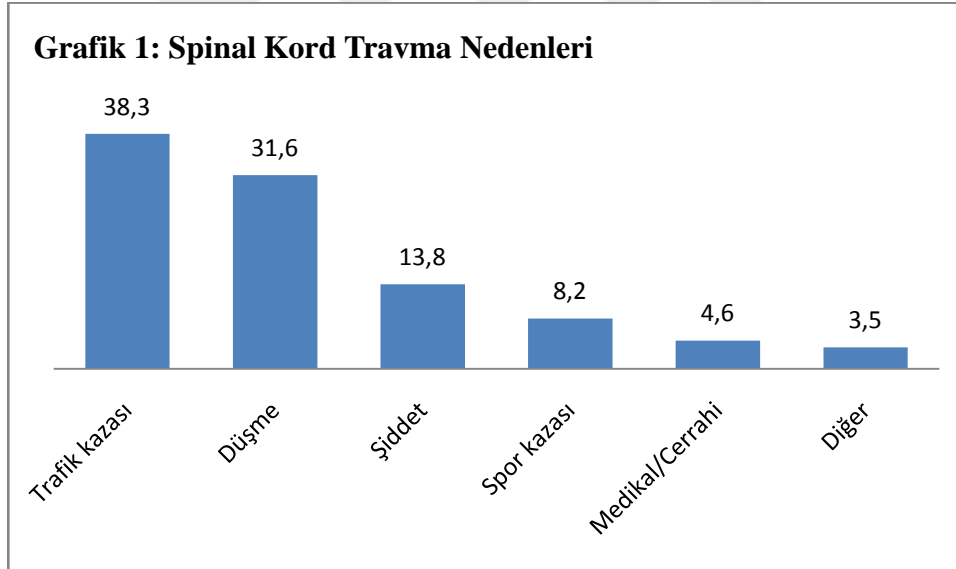
Omurilik venlerinin yerleşmesi arterlere paralellik gösterir. Üst vertebral bölgenin venleri, internal jugular vene ve vena cava superiorya boşalırken, alt vertebral bölgenin boşalımı vena cava inferiora olmaktadır (Zhang ve ark 1995).

2.4. Spinal Kord Hasarı

2.4.1. Etyoloji ve Epidemiyoloji

Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Spinal Kord İnjury İstatistik Merkezinin 2018 yılında yayınladığı verilere göre, her yıl 17700 yeni vaka popülasyona katılmaktayken, bu rakam nüfusun milyonda 54'üne denk gelmektedir. Bu rakamlara olay yerinde veya transport sırasında hayatını kaybedenler dahil değildir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan SKT yaşamış kişilerin sayısının şu anda yaklaşık 288.000 olduğu tahmin edilmektedir. Ortalama yaralanma yaşı, 1970'ler boyunca 29'ken, şu anda 43'e yükselmiştir. Vakaların %78'i erkektir (NSCISC web adresi).

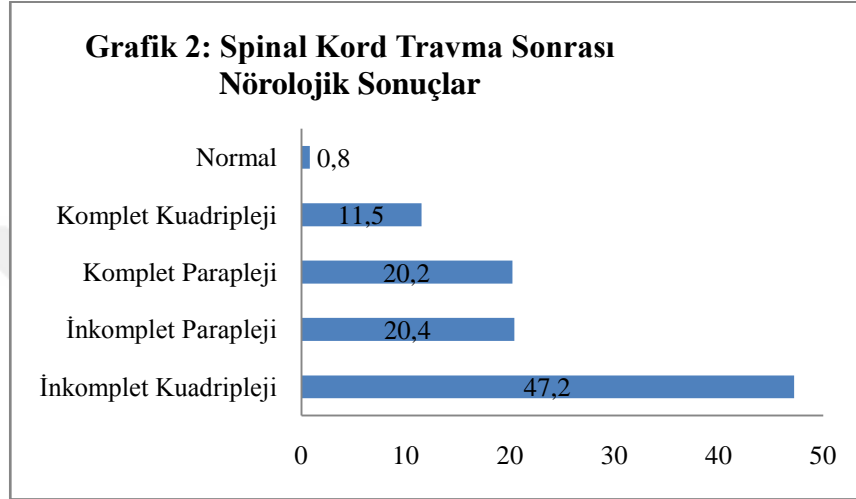
Araç kazaları şu anda en önemli yaralanma sebebi olup, yüksekten düşme vakaları 2. sırada yer almaktadır. Şiddet eylemleri (öncelikle ateşli silah yaralanmaları) ve spor etkinlikleri de nispeten yaygın nedenlerdir (NSCISC web adresi).



Grafik 1: 2015-2018 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde spinal kord hasarına neden olan durumlar grafikte belirtilmiştir. NSCISC(National Spinal Cord Injury Statistical Center) verileridir (NSCISC web adresi).

Hastane akut bakım ünitesinde kalma süreleri, 1970'lerde 24 günden, şu anda 11 güne düşmüştür. Rehabilitasyon kalış süreleri 1970'lerde 98 günden şu anda 34 güne düşmüştür (NSCISC web adresi).

Bu istatistiklerden elde edilen sonuçlarda vakaların nörolojik durumlarının dağılımları şu şekilde olmuştur. Bu yaralanmalar sonunda inkomplet kuadripleji en sık görülen nörolojik tabloyu göstermektedir. Komplet ve inkomplet parapleji sıklığı benzer oranlarda görülmüştür. Vakaların ancak %1'i taburcu olmadan önce tam iyileşme sağlamıştır (NSCISC web adresi).



Grafik 2: 2015-2018 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde spinal kord hasarı oluşmuş olan vakaların nörolojik durum grafiği. NSCISC(National Spinal Cord Injury Statistical Center) verileridir (nscisc web adresi).

SKT olanların yaklaşık % 30'u yaralanmayı takip eden herhangi bir yılda bir veya daha fazla kez tekrar hastaneye kaldırılır. Yeniden hastaneye yatırılanlar arasında hastanede kalış süresi ortalama 22 gündür. Genitoüriner sistem hastalıkları, yatış sıklığının önde gelen nedenidir, bunu cilt hastalığı izler. Solunum, sindirim, dolaşım ve kas iskelet sistemi hastalıkları da yaygın nedenlerdir. 1973 yılında kuruluşundan bu yana Ulusal Spinal Kord Travması Veri Tabanına kayıtlı kişiler, yaralanmadan sonra 40 yıl boyunca takip edilmiştir. Bu süre zarfında, bu popülasyon için yaşam ömrünün azalması üzerinde en büyük etkiye sahip görünen ölüm nedenleri pnömoni ve septisemidir. İntihar, kanser, kalp hastalığı, stroke, arteriyel hastalıklar, pulmoner emboli, genitoüriner sistem hastalıkları, sindirim sistemi hastalıklarına bağlı ölüm oranları daha düşük seyretmektedir (NSCISC web adresi).

Ortalama yıllık giderler (sağlık maliyetleri ve yaşam giderleri) ve doğrudan SKT'ye bağlanan tahmini ömür boyu maliyetleri eğitim, nörolojik bozulma ve yaralanma öncesi istihdam geçmişine bağlı olarak büyük ölçüde değişmektedir. Bu tahminler, ücret kayıpları, yan haklar ve verimlilik gibi dolaylı maliyetleri içermemektedir (NSCISC web adresi).

SKT olan insanlar için ortalama yaşam süresi 1980'lerden bu yana iyileşmemiş ve SKT olmayan kişilerin yaşam beklentilerinin oldukça altında kalmıştır. Ölüm oranları, yaralanmadan sonraki ilk yıl boyunca, özellikle de ciddi nörolojik bozukluğu olan kişiler için, sonraki yıllara göre önemli ölçüde yüksek olduğu görülmüştür (NSCISC web adresi).

TABLO 1: Yaralanma Şiddeti ve Yaralanma Yaşına Göre Yaralanma Sonrası Yaşam Beklentisi (Yıl)

		İlk 24 Saat Hayatta Kalan Kişiler					Yaralanma Sonrası En Az 1 Yıl Yaşayan Kişiler				
		Herhangi Bir Seviyede Motor Fonksiyon ASIA D	Parapleji	Alt Servikal Tetrapleji C5-C8	Üst Servikal Tetrapleji C1-C4	Ventilatör Bağımlı Herhangi Seviye	Herhangi Bir Seviyede Motor Fonksiyon ASIA D	Parapleji	Alt Servikal Tetrapleji C5-C8	Üst Servikal Tetrapleji C1-C4	Ventilatör Bağımlı Herhangi Seviye
20	59,6	52,9	45,7	40,3	34,0	11,3	53,2	46,2	41,2	35,2	19,0
40	40,7	35,2	29,7	24,9	20,9	8,7	35,4	30,2	25,7	22,1	13,3
60	23,2	19,5	16,1	13,2	11,1	3,7	19,7	16,5	14,0	12,5	7,9

Tablo 1'e göre yaralanmanın motor fonksiyonlar üzerine oluşturduğu disfonksiyon arttıkça yaşam beklentisi azalmıştır. Ayrıca genç hastalarda yaşam beklentisi daha fazladır. Travma üzerinden 1 yıl geçmiş vakalarda yaşam beklentisi daha uzun olmaktadır. Yine bu tablodan anlaşılacağı üzere travma sonrası ölümlerin büyük kısmı ilk 1 yıl içinde gerçekleşmektedir (NSCISC web adresi).

2.4.2. Fizyopatoloji

Omurilik yaralanmasına ait patofizyolojik mekanizmaların temelini anlamak, farmakolojik araştırmaları kolaylaştırmak için büyük önem taşır. Bu farmakolojik stratejilerin hedefi büyük ölçüde sekonder yaralanma mekanizmalarının etkilerini hafifletmek veya ortadan kaldırmaktır (Randall ve ark 2001). SKT'deki bu patofizyolojik mekanizmaların anlaşılması daha da önemlidir; çünkü kafa travması, serebral iskemi ve subaraknoid kanama gibi merkezi sinir sisteminin diğer hasarlarında da mekanizma

tamamen olmasa da ortaktır (Mcintosh ve ark 1998). Akut SKT'nin patofizyolojisi hem primer hem de sekonder yaralanma mekanizmalarını içerir (Benzel 1996, Suwanwela ve ark 1962).

Hastalar primer yaralanmanın şiddetine göre gruplara ayrılabilir (nörolojik sınıflama). Hastanın hastaneye yatışındaki nörolojik durumu en güçlü prognostik göstergedir. Bununla birlikte, SKT hastalarının büyük çoğunluğu için sekonder yaralanmaların daha fazla hasara neden olduğu, restoratif süreçleri sınırladığı ve uzun vadeli morbidite artışına neden olduğu kabul edilmektedir. Bu nedenle, SKT'deki sekonder yaralanma mekanizmalarının tam olarak anlaşılması, hedeflenen müdahalelerin geliştirilmesini kolaylaştırmaktadır (Randall ve ark 2001).

2.4.2.1. Primer Yaralanma

Primer hasarın dört karakteristik mekanizması vardır: (I) travma ve kalıcı kompresyon, (II) geçici kompresyon ile tek başına etki, (III) distraksiyon ve (IV) laserasyon / transeksiyon. İlk ve en yaygın mekanizma travma ve kalıcı kompresyondur (Randall ve ark 2001).

1. Travma ve kalıcı kompresyon, spinal kordu komprese eden kemik fragmanları, kırık çıkıkları ve akut disk yırtılmaları burst kırıklarında belirgindir (Randall ve ark 2001).

2. Geçici kompresyon ile tek başına etki, altta dejenerasyona sekonder servikal omurga hastalığı olan kişilerde hiperekstansiyon yaralanmalarında gözleendiği üzere sadece geçici kompresyonlarla tek başına etki eder (Randall ve ark 2001).

3. Distraksiyon, spinal kolonun vertikal düzlemde zorla gerilmesi (distraksiyon) üçüncü bir mekanizma oluşturur ve fleksiyon, ekstansiyon, rotasyon veya dislokasyondan kaynaklanan distraksiyon kuvvetleri, spinal kord perfüzyonun bozulmasına veya gerilmesine neden olduğunda belirgin hale gelir. Bu tür yaralanma, özellikle kırıkdağı vertebra gövdelerinin, az gelişmiş kas sisteminin ve ligament gevşekliğinin predispozan faktörler olduğu çocuklarda, radyolojik anormallik olmadan kendini gösterebilir (Pang ve ark 1982)

4. Laserasyon/transeksiyon, spinal kord laserasyonu, travma sonucunda kırılan ve serbestleşip parçalı hale gelen kemik fragmanlarının spinal kord üzerinde laserasyon oluşturması ile görülür. Küçük yaralanmalardan tam transeksiyona kadar değişen derecelerde laserasyon oluşabilir (Randall ve ark 2001).

İlk mekanik etki, esas olarak merkezi gri maddeye zarar verirken beyaz maddenin ve özellikle periferinin göreceli olarak korunmasına neden olur. Gri madde içinde oluşan hasar artışının nedeni, gri maddenin yumuşak kıvamı ve artmış vasküler yapısına bağlıdır (Wolman 1965). Travma sonrasında kanama erken dönemde gelişir ve omurilikteki kan akışı ilk mekanik yaralanmadan sonra bozulur. Kan akışındaki bozulma, hipoksi ve iskemi kaynaklı lokal enfarktüsle sonuçlanır. Bu, özellikle yüksek metabolik gereksinimi nedeniyle gri maddeye zarar verir. Yaralanma bölgesinden geçen nöronlar fiziksel olarak bozulmakta ve miyelin kalınlığını azalmaktadır (Randall ve ark 2001). Sinir geçişi, yaralanma bölgesi yakınındaki mikro kanamalar veya ödem nedeniyle daha da bozulabilir (Lapchak ve ark 2001). Gri maddenin yaralanmadan sonraki ilk 1 saat içinde geri dönüşümsüz olarak hasar gördüğü, beyaz maddenin ise yaralanmadan sonraki 72 saat içinde geri dönüşümsüz şekilde hasar gördüğü düşünülmektedir (Blight ve ark 1989).

2.4.2.2. Sekonder Yaralanma

Primer mekanik yaralanması, uzamış hasarlanma durumunda sekonder yaralanma mekanizmalarının nidusu haline gelir. Bu sekonder mekanizmalar arasında nörojenik şok, kanama ve iskemi-reperfüzyon, eksitotoksisite, kalsiyum aracılı sekonder yaralanma ve sıvı-elektrolit bozuklukları, immünolojik yaralanma, apoptoz, mitokondri fonksiyonundaki bozukluklar ve diğer çeşitli süreçler yer alır (Randall ve ark 2001).

2.4.2.2.1. Nörojenik Şok

Her ne kadar bu terimin birkaç yorumu olsa da spinal kord yaralanması nörojenik şokla sonuçlanabilir. Vazomotor nöron paralizisinin neden olduğu vazodilatasyon, doku perfüzyonunun bozulması ile sonuçlanır. Ayrıca vazodilatör ve vazokonstriktör dengesinin, arteriyoller ve venüller üzerindeki etkilerinin bozulması ile sempatik tonus azalırken, vagal tonus artar ve bu duru miyokard depresyonu ile sonuçlanır. Azalmış miyokard aktivitesi perfüzyonun bozulmasına daha fazla katkıda bulunur. Eğer tedavi edilmezse, nörojenik şokun sistemik etkileri (yani omurilik ve diğer organların iskemisi) nöral doku hasarını şiddetlendirebilir (Guha ve ark 1989).

2.4.2.2.2. Kanama ve İskemi – Reperfüzyon

Vasküler yaralanmalar hem hemorajik hem de iskemik hasar oluşturur. Mikro sirkülasyon (özellikle venüller ve kapillerler), yaralanma bölgesinde ilk mekanik travma nedeniyle bozulur (bir miktar rostral ve kaudalinde de görülecek şekilde). Anterior spinal

arter gibi büyük damarların göreceli olarak korunduğu görülür. Bu hasar, zamanla hemorajik nekrozu ilerleten küçük kanama alanlarına veya peteşilere neden olur. İntravasküler tromboz iskemiye katkıda bulunabilir. Mikro damarların mekanik hasarı ve otoregülasyon kaybı nedeniyle mikro kanamalar oluşur. İskemi bu vasküler olayın bir ürünüdür ve muhtemelen tromboza, vazospazmdan dolayı azalan kan akışına ve otoregülatuar homeostaz kaybı ile birlikte mikro dolaşım veya sistemik hipoperfüzyona sekonder geliştiği görülür (Koyanagi ve ark 1993).

Azaltılmış perfüzyon aşamasından sonra bir hiperemi veya "aşırı perfüzyon" dönemi gelişebilir. Bunun laktat gibi asidik metabolitlerin birikmesinden kaynaklanan perivasküler pH'ta bir azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu tür reperfüzyon, zararlı serbest radikallerin ve diğer toksik yan ürünlerin oluşumu yoluyla yaralanmayı ve hücrel ölümü şiddetlendirebilir (Lipton ve ark 1994).

Oksijen türevli serbest radikaller (süperoksit, hidroksil radikalleri, nitrik oksit ve diğer yüksek enerjili oksidanlar, peroksitrit dahil) iskemi sırasında erken reperfüzyon döneminde en belirgin artış göstermektedir (Fabian ve ark 1995). Bu yüksek oranda reaktif oksijen ve azot türleri, omurilik travmasının sekonder hasarına katkıda bulunurlar. Nitrik oksit sentaz, fosfolipazların kalsiyum aracılı aktivasyonu, ksantin oksidaz, inflamatuvar hücreler ve Fenton ve Haber Weiss reaksiyonları dahil olmak üzere çok sayıda hücre yolağı ile üretilirler (Cuzzocrea ve ark 2001). Oksidatif stres, nörotravmada olduğu gibi koruyucu hücrel antioksidan kapasitesini aştığında, bu reaktif moleküllerin net üretimi daha sonra proteinlerin, lipitlerin ve nükleik asitlerin oksidasyonuna neden olur (Cuzzocrea ve ark 2001). Daha spesifik olarak, bu tür moleküller, mitokondriyal oksidatif zincir enzimlerinin inaktivasyonuna, gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenazın inaktivasyonuna, Na – K ATP'azın inhibe edilmesine, sodyum membran kanallarının inaktivasyonuna ve lipid peroksidasyonu sonucu zararlı sekellerinin oluşmasına neden olur. Özet olarak, oksidatif stresin reaktif oksijen ve azot moleküllerinin oluşumu SKT'ye katkıda bulunur ve sekonder yaralanmaların diğer araçları ile yakından ilgilidir (Lewen ve ark 2000).

Total Oksidatif Stres (TOS): Farklı oksidan türlerin serum (veya plazma) konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilir, ancak ölçümler zaman alıcı, emek yoğun ve maliyetlidir ve karmaşık teknikler gerektirir. Farklı oksidan moleküllerinin ayrı ayrı ölçümü pratik olmadığından ve oksidan etkileri sonradan eklemeli olduğundan, bir

numunenin toplam oksidan durumu ölçülür ve buna total oksidatif stres(TOS) denir (Erel 2005). Erel Ö. tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir. Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-odanisidine kompleksini ferrik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (Suner ve ark 2014).

Total Antioksidan Status(TAS): Erel Ö. tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metottur (Benzel 1996). Bu yöntemde Fe^{2+} -O-dianisidine kompleksi hidrojen peroksid ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir (Suner ve ark 2014).

Oksidatif stres indeksi (OSI): TOS' un nümerik olarak TAS'a bölümü ile bulunan sayıdır. Oksidan strete artış gösterir (Suner ve ark 2014).

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS): Hücreler, dokular ve vücut sıvılarında lipid peroksidasyon ürünlerini ölçmek için daha spesifik ve tamamlayıcı bir tahlildir. Deney, referans olarak malondialdehit (MDA) standartlarını kullanarak ortak mikrotiter formatta gerçekleştirilir. Oksidan strete artar, antioksidan ortamda azalır (Landau ve ark 2013).

2.4.2.2.3. Eksitotoksisite

Biyokimyasal düzensizlikler ve eşlik eden sıvı - elektrolit bozuklukları, akut SKT'de sekonder bir yaralanma mekanizması olarak merkezi bir rol oynamaktadır. Uyarıcı nörotransmitterler serbest bırakılır ve depo edilebilir (Farooque ve ark 1997). Santral sinir sisteminin ana uyarıcı nörotransmitteri olan Glutamat, yaralanmadan sonra aşırı salınır (Gasic ve ark 1992). Bu durum, doğrudan ve dolaylı hasarlara (mikrosirkülasyonu bozar ve serbest radikallerin oluşumu artar) neden olabilir (Faden ve ark 1988). Glutamat hücre

reseptörü aktivasyonu (özellikle N-methyl-D-aspartate – NMDA ve α -amino 3 hydroxy 5 methylisoxazole 4 propionate kainate – AMPA kainate) iskemik hasarın üretiminde kritik rol oynar (Koyanagi ve ark 1993, Von Euler 1997). “Eksitotoksisite” terimi ilk kez Olney tarafından kullanılmış ve glutamat reseptöerlerinin aşırı aktivasyonu ile nöronal hasarı tanımlamıştır (Olney 1994). Eksitotoksisite, SSS yaralanmasının mekanizmalarının tanımlanmasında merkezi bir konuma sahiptir. Glutamat reseptörü aktivasyonu, daha sonra sitotoksik ödem ve hücre içi asidoz oluşumuna neden olan hücre içi sodyumun erken birikmesine neden olur (Choi 1999). Na^+ K^+ ATP’azın başarısızlığı ayrıca hücre içi sodyum ve su birikimini ve hücre dışı potasyum kaybını şiddetlendirebilir (Olsson ve ark 1995). Ek olarak, hücre içi kalsiyum (kısmen, Na^+ Ca^{2+} değiştiricinin aktivasyonu ile) birikir; takiben, fizyolojide derin değişiklikler ve sonrasında hasar meydana getirir (Agrawal 1997). Aslında, hücre içi kalsiyum birikimi, SSS’de “toksik hücre ölümünün son ortak yolu” olarak belirtilmiştir (Schanne ve ark 1979, Cheung ve ark 1986). Glutamat nörotoksisitesine reaktif oksijen ve azot türlerinin üretilmesi de aracılık eder. 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 ve önemli proteinlerin diğer oksidatif modifikasyonlarının başlatılması dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar vasıtasıyla nöronal ölüme katkıda bulunan reaktif moleküllerin ortaya çıkmasına neden olan karmaşık bir olaylar dizisini başlatır (Beckman 1994).

2.4.2.2.4. Kalsiyum Aracılı Sekonder Yaralanma ve Sıvı-Elektrolit Bozuklukları

Yüksek hücre içi kalsiyum konsantrasyonları, çeşitli mekanizmalar yoluyla sekonder hasara katkıda bulunur. Bu mekanizmalardan biri mitokondriyal fonksiyona müdahale gerektirir (Fiskum 2000). Bu girişim, ilk yaralanmaya sekonder hipoksi ve iskemi tarafından zaten bozulmuş olan hücresel solunumu engeller. Artan hücre içi kalsiyum ayrıca kalpain, fosfolipaz A2, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi bir dizi kalsiyum bağımlı proteaz ve lipazları uyarır (Bracken ve ark 1997). Deneysel SKT’de, nöronal doku lezyonlarının penumbrasında aktive edilmiş glial ve inflamatuvar hücrelerde Calpain aktivitesi ve ekspresyonu artar (Hall ve ark 1987). Kalpainler, akson-miyelin ünitesinin yapısal proteinleri de dahil olmak üzere SSS’deki önemli yapısal bileşenleri bozabilir (Shields ve ark 2000). Ek olarak, diğer kalsiyum bağımlı proteazlar ve kinazlar, hücre zarlarını tahrip eder ve nörofilamentler gibi hücre ultra yapısının bazı bileşenlerinin

çözünmesine neden olur. Lipaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz aktivasyonu, araşidonik asidin tromboksanlara, prostaglandinlere ve lökotrienlere dönüşmesine neden olur ve bu metabolitlerin seviyeleri, yaralanma dakikalarında omurilik travması ile birlikte oluşabilir. (Hall ve ark 1986). Ayrıca, $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATP'az inhibisyonu ve doku ödemi ile ilişkili olarak yaralanmadan yaklaşık 24 saat sonra araşidonik asitte gecikmiş bir artış olduğu görülmektedir (Faden ve ark 1987).

Deneysel SKT'de mikroglia / makrofajlar tarafından üretilen kalıcı siklooksijenaz-1 (COX-1) birikimi ve endotel tarafından oluşturulan COX-1 regülasyonu gösterilmiştir. Araşidonik asidin dönüştürülmesiyle üretilen bu maddeler, trombosit agregasyonu ve vazokonstriksiyona neden olarak kan akışının azalmasına katkıda bulunur. Ayrıca, inflamatuvar bir tepkiye ve lipid peroksidasyonuna katkıda bulunabilirler. Hücresel membranların bariz hasarına ek olarak, lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin üretimini içeren tekrarlayan bir döngüye neden olur. Bu radikaller membranlara zarar vermeye devam eder, bu da lipid peroksidasyonuna ve serbest radikal oluşumuna neden olur. Bu döngü, α -tokoferol (E vitamini) ve süperoksit dismutaz gibi endojen antioksidanlar tarafından durdurulmadıkça devam eder (Schwab ve ark 2000).

Siklooksijenaz-2 (COX-2), yakın zamanda sekonder yaralanma için olası bir etken olarak incelenmiştir. COX-2, mRNA ve protein ekspresyonu, deneysel SKT'den sonra indüklenir (Resnick ve ark 1998). Ca^{2+} akışının, membranla ilişkili fosfolipazların aktivasyonunu ve araşidonik asidin serbestliğini ortaya çıkardığı iyi bilinmektedir. Artmış hücre dışı uyarıcı nörotransmitterler, nöronal aktivasyonu uyarır ve kortikal nöronlarda COX-2 ekspresyonunun indüklenmesine neden olur (Kaufmann ve ark 1996). Sonuç olarak, nöronal ölüm doğrudan toksisite ile sonuçlanabilir. Selektif COX-2'nin inhibisyonu, hayvan deneylerinde spinal kord hasarını iyileştirme potansiyeli ortaya çıkarmıştır (Resnick 1998, Lapchak ve ark 2001).

Artan hücre dışı potasyum, nöronal iletimi olumsuz yönde etkileyen nöronların aşırı depolarizasyonu ile sonuçlanır ve aslında omurilik şokunun altında yatan kritik nedensel faktör olabilir. Daha az dikkat çeken bir diğer elektrolit rahatsızlığı da magnezyum tükenmesidir. Hücre içi magnezyumun tükenmesi, glikoliz, oksidatif fosforilasyon ve protein sentezi gibi metabolik süreçler üzerinde zararlı bir etkiye sahip olabilir ve ayrıca magnezyumun bir kofaktör olarak görev yaptığı bazı enzimatik reaksiyonları olumsuz

yönde etkileyebilir. Magnezyum tükenmesi ayrıca hücre içi kalsiyum birikimine ve yukarıda belirtilen ilişkili patofizyolojik işlemlere de katkıda bulunabilir. Magnezyumun, eksitator iyon kanalının NMDA reseptörünü bloke ederek nöronal hücreleri de koruduğu, böylece teorik olarak eksitotoksisiteyi azalttığı düşünülmektedir (Rhoney ve ark 1996).

2.4.2.2.5. İmmünolojik Hasar

SKT, SSS'nin belirli hücrelerinin aktivitesinde değişiklikler meydana getirir. Bazı glial hücre sınıfları, eksitator aminoasit seviyelerinin ve pH'ın düzenlenmesi de dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar ile SSS'de homeostazın korunmasına yardımcı olur. SKT'den sonra, bu glial hücreler tarafından homeostazın düzenlenmesi doku asidozuna ve eksitotoksik sürece bağlı olarak başarısız olur (Faden 1986). Diğer glial hücreler, sinir büyümesini etkileyebilecek bazı bileşikler sentezleyebilir. Bu bileşikler, ayrılmış nöronların reaktif büyümesini ve bu aktiviteye karşı koyabilen inhibitör faktörleri uyararak, bozulmuş nöronal ağı yeniden kurabilen nörotrofik büyüme faktörlerini içerir (Mocchetti ve ark 1995). Yine SSS yaralanmasından sonra hücre kalıntıları gidermede işlev gören diğer glial hücrelerin, hücre hasara neden olabilecek bazı oksidatif ve lizozomal enzimlerin aktivitesini arttırdığı görülmüştür (Faden 1986). Omuriliğe travma sonrası iki fazlı lökosit yanıtı vardır. Başlangıçta, nötrofil infiltrasyonu dominanttır. Bu lökositler tarafından sonradan litik enzimlerin salınımı nöronlar, glia ve kan damarlarının zarar görmesini şiddetlendirebilir. İkinci aşamada, hasar görmüş dokunun fagosite edilebilmesi için makrofaj migrasyonu görülür (Schwab ve ark 1996).

İmmünolojik aktivasyonun ilerleyici doku hasarını teşvik ettiğini ve/veya SSS yaralanmasından sonra nöral rejenerasyonu inhibe ettiğini gösteren veriler vardır. Bununla birlikte, lezyonlu spinal kord içindeki bazı immün hücrelerin fonksiyonel önemi tartışmalıdır (Popovich ve ark 1996). Makrofajlar ve mikroglia hücreleri, nöral rejenerasyonun ayrılmaz bileşenleri olarak kabul edilirken, bu hücrelerin oligodendrosit lizisine (TNF ve nitrik oksit üretimini içeren bir işlemle), nöron ölümüne ve demiyelinizasyona katkı sağladığı da düşünülmektedir (Rhoney ve ark 1996). Omuriliğe doğrudan kontüzyonun, konakçı bağışıklık sisteminin SSS miyelinin bir bileşenine sensitize olduğu gösterilmiştir (Popovich ve ark 1996). Yukarıda bahsedilen lökosit infiltrasyonunun iki fazının, primer hasardan sonraki ilk 24 saat içinde başlayan ve birkaç gün boyunca zirve yapan dejenerasyonun aksinlerin demiyelinizasyonuna katkıda bulunduğu varsayılmaktadır. Bu süreç gri ve beyaz cevher içinde kavite alanlarının görülmesine

katkıda katkı sağlayabilir. Wallerian dejenerasyonu belirginleşir ve daha sonra skar dokusu oluşur. Skar oluşumu öncelikle fibroblastlara ek olarak astrositler ve diğer glialar tarafından yönetilir (Schwab ve ark 1996).

Bağışıklık hücrelerinin hasarlı SSS'ne alımı, birçok protein ailesi tarafından yönetilir ve intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) en iyi örneğidir. ICAM-1, nötrofillerin dokulara infiltrasyonunu stimüle ederek immün cevaba katkıda bulunur. Bununla birlikte, akut SKT sonrası sekonder hasardaki rolü iyi tanımlanmamıştır (Hamada ve ark 1996).

SKT sonrası sekonder yaralanmada ICAM-1 artışı gözlenmiştir. ICAM-1'e karşı gelişen spesifik bir monoklonal antikorun, miyeloperoksidaz aktivitesini önemli ölçüde bastırıldığı, spinal kord ödemi azalttığı ve ayrıca omurilik kan akışını düzelttiği görülmüştür (Hamada ve ark 1996). Diğer önemli mediatörler, p-selektin, IL-1, IL-6, TNF- α 'dır. IL-10'un, TNF α üretimini azalttığı ve böylece SKT'den sonra monositlerin ve diğer immün hücrelerin aktivasyonu üzerinde inhibe edici bir etki oluşturduğu gösterilmiştir. (Bethea ve ark 1999, Brewer ve ark 1999). Diğer kemotaktik ajanlar (kemokinler) ve bunların reseptörleri, SKT'den sonra hızlıca artış gösterir ve hücrel infiltrasyona ve sekonder hasara katkıda bulunur (Ghirnikar ve ark 2000). Bu nedenle kemokin antagonizması, inflamatuvar yanıtı ve bununla ilişkili zararlı etkileri azaltmak için başka bir araştırma konusu olabilir. Başka bir çalışmada, travmatik SKT'nin nükleer faktör-kappaB aktivasyonunu indüklediğini göstermiştir. (Bethea ve ark 1998). Nükleer faktör-kappaB, hücrelerin inflamatuvar, proliferatif ve hücre ölüm yanıtlarını düzenleyen çeşitli genlerin transkripsiyonel aktivasyonu için gerekli olan transkripsiyon faktörleri ailesini temsil eder. SKT tarafından ortaya çıkan immün yanıtın modülasyonu, sekonder hasarı azaltmak için potansiyel bir terapötik hedef olarak önemlidir (Bethea ve ark 1998).

2.4.2.2.6. Apoptoz

Son yıllarda, programlanmış nöron ölümü yolları SKT dahil çoklu nörolojik hastalıkların patobiyolojisinde yer almıştır. Apoptoz sitokinler, inflamatuvar hasar, serbest radikal hasarı ve eksitotoksisite gibi çeşitli hasarlar ile tetiklenebilir. Deneysel SKT modellerinden elde edilen son veriler, apoptozun (özellikle kaspazların aktivasyonu) SKT'de önemli yer edindiğini göstermiştir (Springer ve ark 1999, Arnold ve ark 2000)

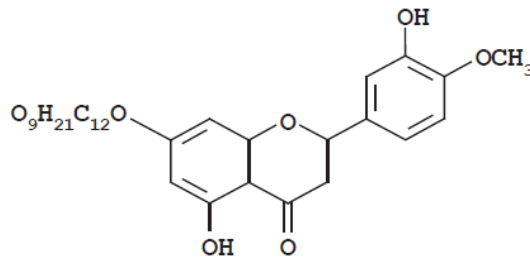
SKT'deki apoptotik kaskad, nöronlarda, oligodendrositlerde, mikroglia da astrositlerde aktive edilir. Mikroglia'daki apoptoz, inflamatuvar sekonder hasara katkıda bulunur (Shuman ve ark 1999). Deneysel çalışmalar, oligodendrositlerde apoptozisin, SKT sonrası ilk birkaç hafta boyunca gelişen posttravmatik demiyelinizasyona katkıda bulunduğunu göstermektedir (Abe ve ark 1999, Li G ve ark 1999). SKT sonrası nöronlardaki apoptozis, hem makrofajların aracılık ettiği ekstrinsik (Fas reseptörünün aracılık ettiği ve / veya makrofajlar tarafından indüklenebilir nitrik oksit sentaz üretimi), hem de intrinsik (doğrudan kaspaz-3 proenzim aktivasyonu ve / veya mitokondriyal hasar, sitokrom c salınımı ve indükleyici kaspaz-9 aktivasyonu) yollarla oluşur. Ayrıca, son çalışmalar kaspaz inhibitörlerinin SKT sekonder hasarında tedavi edici girişimler için alternatif olabileceği gösterilmiştir (Li M ve ark 2000).

Apoptozun iki ana yolu ekstrinsik (reseptör bağımlı) ve intrinsik (reseptör bağımsız) yollar iyi karakterize edilmiştir ve her ikisi de SKT'de aktif görünmektedir. Reseptöre bağlı apoptozda, en güçlü sinyal TNF'ye aittir. TNF'nin, hasarlı spinal kord içinde hızla biriktiği ve indükleyici kaspaz olarak kaspaz-8 ve efektör kaspaz olarak kaspaz-3 ve kaspaz-6'yı içeren programlanmış bir kaspaz aktivasyon sekansını indükleyen nöronların, mikroglia ve oligodendrositlerin Fas reseptörünü aktive ettiği bilinmektedir (Eldadah ve ark 2000). Efektör kaspazlarının aktivasyonu, etkilenen hücrenin kaybına neden olur. Ekstrinsik yolun alternatif bir indükleyicisi, programlanmış hücre ölümünü etkilemek için kaspaz-3 aktivasyonunu sağlayan indüklenebilir nitrik oksit sentazdır (Satake ve ark 2000). Reseptörden bağımsız yol, hücre içi sinyaller tarafından aktive edilir ve bu nedenle "intrinsik" yol olarak adlandırılır. Reseptörden bağımsız yolun aktivasyonu, SKT'den sonraki nöronlarda tarif edilmiştir. Burada yüksek intranöronal kalsiyum konsantrasyonları mitokondriyal hasara, sitokrom c salınımına ve ardından programlanmış alternatif bir kaspaz aktivasyon sekansının aktivasyonuna neden olur (Eldadah ve ark 2000). Bu sırada, ekstrinsik yolda bulunan apoptoz aktive edici faktör-1 ile kaspaz-9, intrinsik yolda bulunan kaspaz-3 ve kaspaz-6'yı (efektör kaspazlar) indükler ve bu durum etkilenen nöronun ölümü ile sonuçlanır (Budd ve ark 2000).

2.5. Hesperidin

2.5.1. Hesperidin'in Kimyasal Yapısı

En önemli flavonoidlerden biri olan hesperidin (formül = C₂₈H₃₄O₁₅) düşük moleküler ağırlıklı bir moleküldür (moleküler ağırlık 610.57 Da) ve flavonoidlerin flavanon sınıfına aittir. Hesperidin (hesperetin-7-O-rutinoside), flavanon hesperetin β-glikozid formudur ve neredeyse sadece turunçgillerde, özellikle de portakalda bulunur (Boonpawa ve ark 2017). Kimyasal olarak hesperidin, aglikon (şeker kısımları içermeyen formlar), hesperetin ve şeker rutinosidinden oluşur. Hesperidin, aşağıdaki kimyasal yapı ile temsil edilir (Kunti ve ark 2014).



2.5.2. Hesperidin Kaynakları

Hesperidin, turunçgillerde, başlıca tatlı portakalda (meyvenin taze ağırlığının % 14'üne karşılık gelir) ve limonda ve sonuçta bu turunçgillerden yapılan meyve sularında baskın flavonoiddir (Barthe ve ark 1988). Bu meyvelerin kabuk ve zar kısımları en yüksek hesperidin konsantrasyonuna sahiptir (Leuzzi ve ark 2000).

2.5.3. Hesperidin'in Farmakokinetiği

İnsanlarda flavanone biyoyararlanımı hakkında çok az bilgi yayınlanmıştır. Hesperidin kendisi bağırsaktan glikozid olarak bozulmadan emilir. Hesperidin, oral alımdan 3 saat sonra plazmada görünür ve 5 ila 7 saat arasında zirveye ulaşır. Hesperidin, glukuronitlere % 87, sülfoglukuronitlere % 13 bağlı olarak dolaşımında bulunur. Hesperidin idrar ile atılımı, meyve suyu alımından 24 saat sonra tamamlanır ve doz bağımlı değildir (Manach ve ark 2003).

İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan flavonoid türevlerine ait çalışmalar, flavonoid tüketiminin nöron sağlığı için önemli olduğuna dair kanıt sağlamıştır (Youdim ve ark 2001). Hesperidin kan beyin bariyerini geçtiğini net bir şekilde gösteren çalışma 2003 yılında yayımlanmıştır (Youdim ve ark 2003).

2.5.4. Hesperidin Biyoaktivitesi

Hesperidin iyi bir serbest radikal şelatörüdür (Malesev ve ark 1997). Diğer birçok araştırmacı hesperidin antioksidan aktivitesini ve çeşitli tahlil sistemleri kullanarak radikal temizleyici özelliklerini incelemişlerdir. Jovanovic ve arkadaşları, hesperidin elektron transferindeki süperoksit iyonlarını ve ayrıca in vitro uyumlu proton transfer reaksiyonunu azalttığını bildirmiştir (Jovanovic ve ark 1994). Hesperidin antioksidan etkisinden başka vasküler sistem üzerindeki etkileri (kapiller permeabiliteyi düzenler), antiinflamatuvar etkisi, antioksidan etkisi, enzimler üzerinde etkisi, antimikrobiyal aktivitesi (antibakteriyel, antifungal, antiviral), antikarsinojenik aktivitesi, hücre agregasyonu inhibisyonu, antialerjik etkisi, ultraviyole koruma aktivitesi bilinmektedir (Kunti ve ark 2014).

Turunçgillerde baskın olan bir flavanon glikozit olan hesperidin, peroksizom proliferatör aktive edilmiş reseptör gama (PPAR) üzerinde agonistik bir aktiviteye sahiptir. Bu reseptör üzerinden antiapoptotik etki oluşturur. (Kim ve ark 2015, Bhargava ve ark 2018). Hesperidin aynı zamanda antiinflamatuvar ve antioksidan özelliktedir (Kahraman ve ark 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, 29.06.2018 tarih ve 2018-023 karar sayılı Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyle Yerel Etik Kurulu onayı ve 181518024 proje no ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün desteği alındıktan sonra, Şubat 2019'da Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde uygulanmıştır. Deneyde kullanılan ratlar aynı merkezden temzin edilmiştir.

Deney sonucunda elde edilen spinal kord dokusu ve kan örnekleri Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD araştırma laboratuvarında çalışıldı. Elde edilen kord örnekleri histopatolojik inceleme için Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji AD laboratuvarında çalışıldı.

Standart laboratuvar bakım koşullarında tutulan ve deney öncesinde motor nörolojik defisiti bulunmayan ağırlıkları 250-400 gr arası değişen 45 adet rat (wistar-albino) randomize olarak 5 gruba ayrıldı. Denekler çalışmadan önce, aç bırakılmadı ve su

alımlarına izin verildi. Ratlara 10mg/kg xylazin + 60 mg/kg ketamin (İM) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. Spinal kord örnek alımı ve sakrifikasyon işlemi 7. gün yapıldı. Grup1 (sham), grup 2 (laminektomi + spinal travma), grup 3 (laminektomi + spinal travma + i.p Serum fizyolojik uygulaması), grup 4 (laminektomi + spinal travma + i.p 50 mg/kg hesperidin uygulaması), grup 5 (laminektomi + spinal travma + i.p 100 mg/kg hesperidin uygulaması).

Grup 1 (n:9); deneyin 1. günü Drummond Moore ve eğik düzlem testi uygulandı. Takiben denekler araştırma laboratuvarında bakım ve kontrol altına alındı. 7. gün ratlara tekrar Drummond Moore testi ve eğik düzlem testi uygulandı. Ratlar 10mg/kg xylazin(İM) + 60 mg/kg(İM) ketamin ile anestezi altına alındı. Sonrasında prone pozisyona getirildi. Gerekli saha temizliği ve steril izolasyonu takiben bistüri kullanılarak T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçildi. Bilateral adeleler laterale ekarte edilerek laminalar görüldü. T7-9 total laminektomi uygulandı. T7-9 arası kord eksize edildi ve takiben intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan örneği biyokimyasal inceleme için kullanıldı. Alınan kord vertikal olarak 2 ayrı hemikord halinde kesildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içinde tespit edildi ve histolojik incelemeye gönderildi. Diğer kısmı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecelik soğutucuda saklandı.

Grup 2; (n:9) deneyin 1. günü ratlara Drummond Moore ve eğik düzlem testi uygulandı. Denekler 10mg/kg xylazin (İM) + 60 mg/kg ketamin (İM) ile anestezi altına alındı. Sonrasında prone pozisyona getirildi. Gerekli saha temizliği ve steril izolasyonu takiben bistüri kullanılarak T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçildi. Bilateral adeleler laterale ekarte edilerek laminalar görüldü. T7-9 total laminektomi uygulandı. Sonrasında 5 gr ağırlık 10 cm yükseklikten düşürülerek spinal kord travması oluşturuldu. İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Takiben denekler araştırma laboratuvarında bakım ve kontrol altına alındı. 7. gün tekrar Drummond Moore testi ve eğik düzlem testi uygulandıktan sonra ratlar 10mg/kg xylazin(İM) + 60 mg/kg ketamin(İM) ile anestezi altına alındı. Takiben T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan örneği biyokimyasal inceleme için kullanıldı. Alınan kord vertikal olarak 2 ayrı hemikord halinde kesildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içinde tespit edildi ve histolojik incelemeye gönderildi. Diğer kısmı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecelik soğutucuda saklandı.

Grup 3; (n:9) deneyin 1. günü ratlara Drummond Moore ve eğik düzlem testi uygulandı. Denekler 10mg/kg xylazin (İM) + 60 mg/kg ketamin (İM) ile anestezi altına alındı. Sonrasında prone pozisyona getirildi. Gerekli saha temizliği ve steril izolasyonu takiben bistüri kullanılarak T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçildi. Bilateral adeleler laterale ekarte edilerek laminalar görüldü. T7-9 total laminektomi uygulandı. Sonrasında 5 gr ağırlık 10 cm yükseklikten düşürülerek spinal kord travması oluşturuldu. Ratlar halen sedasyon altındayken supin pozisyona getirilerek intraperitoneal (i.p) 50 mg/kg %0,9 serum fizyolojik uygulandı. İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Takiben denekler araştırma laboratuvarında bakım ve kontrol altına alındı. 7. gün tekrar Drummond Moore testi ve eğik düzlem testi uygulandıktan sonra ratlar 10mg/kg xylazin(İM) + 60 mg/kg ketamin(İM) ile anestezi altına alındı. Takiben T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan örneği biyokimyasal inceleme için kullanıldı. Alınan kord vertikal olarak 2 ayrı hemikord halinde kesildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içinde tespit edildi ve histolojik incelemeye gönderildi. Diğer kısmı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecelik soğutucuda saklandı.

Grup 4; (n:9) deneyin 1. günü ratlara Drummond Moore ve eğik düzlem testi uygulandı. Denekler 10mg/kg xylazin (İM) + 60 mg/kg ketamin (İM) ile anestezi altına alındı. Sonrasında prone pozisyona getirildi. Gerekli saha temizliği ve steril izolasyonu takiben bistüri kullanılarak T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçildi. Bilateral adeleler laterale ekarte edilerek laminalar görüldü. T7-9 total laminektomi uygulandı. Sonrasında 5 gr ağırlık 10 cm yükseklikten düşürülerek spinal kord travması oluşturuldu. Ratlar halen sedasyon altındayken supin pozisyona getirilerek intraperitoneal (i.p) 50 mg/kg hesperidin uygulandı (Celik ve ark 2016). İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Takiben denekler araştırma laboratuvarında bakım ve kontrol altına alındı. 7. gün tekrar Drummond Moore testi ve eğik düzlem testi uygulandıktan sonra ratlar 10mg/kg xylazin(İM) + 60 mg/kg ketamin(İM) ile anestezi altına alındı. Takiben T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan örneği biyokimyasal inceleme için kullanıldı. Alınan kord vertikal olarak 2 ayrı hemikord halinde kesildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içinde tespit edildi ve histolojik incelemeye gönderildi. Diğer kısmı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecelik soğutucuda saklandı.

Grup 5; (n:9) deneyin 1. günü ratlara Drummond Moore ve eğik düzlem testi uygulandı. Denekler 10mg/kg xylazin (İM) + 60 mg/kg ketamin (İM) ile anestezi altına alındı. Sonrasında prone pozisyona getirildi. Gerekli saha temizliği ve steril izolasyonu takiben bistüri kullanılarak T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçildi. Bilateral adeleler laterale ekarte edilerek laminalar görüldü. T7-9 total laminektomi uygulandı. Sonrasında 5 gr ağırlık 10 cm yükseklikten düşürülerek spinal kord travması oluşturuldu. Ratlar halen sedasyon altındayken supin pozisyona getirilerek intraperitoneal (i.p) 100 mg/kg hesperidin uygulandı (Celik ve ark 2016). İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Takiben denekler araştırma laboratuvarında bakım ve kontrol altına alındı. 7. gün tekrar Drummond Moore testi ve eğik düzlem testi uygulandıktan sonra ratlar 10mg/kg xylazin(İM) + 60 mg/kg ketamin(İM) ile anestezi altına alındı. Takiben T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan örneği biyokimyasal inceleme için kullanıldı. Alınan kord vertikal olarak 2 ayrı hemikord halinde kesildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içinde tespit edildi ve histolojik incelemeye gönderildi. Diğer kısmı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecelik soğutucuda saklandı.



Ratlardan elde edilen spinal kord dokusu ve kandan; Tümör Nekrozis Factor alfa (TNF- α), interlökin 10, TAS (total antioksidan status), TOS (total oksidatif stres), TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) seviyeleri enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile Tıbbi Biyokimya AD Araştırma Laboratuvarında çalışıldı.

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji AD Laboratuvarında ise ratlardan elde edilen hemikord kesitleri Hematoksilen-Eozin boyası ve histokimyasal MTK boyası kullanılarak ışık mikroskobu altında incelendi ve gözlemlenen patolojiler Malinowsky ve arkadaşları tarafından tanımlanan skorlamaya göre tasnif edildi. Ayrıca Tunel yöntemi kullanılarak apoptoz değerlendirildi.

3.1. Malinowsky ve Ark. Tarafından Tanımlanan Skorlama

1991 yılında Jean Marc Malinowsky ve arkadaşlarının ketamin ve midazolam nörotoksitesini araştırmak için kullandıkları bir skorlamadır. Işık mikroskobunda Hematoksilen-Eozin boyası kullanılarak görülen hücre anomalisine göre tasnif uygulanır. (Malinowsky ve ark 1991). Çalışmamızda denekler 7. gün spinal yaralanma bölgesi merkezde olacak şekilde, yaklaşık 1 cm'lik spinal kord örneği alınmasını takiben sakrifiye edildi. Alınan spinal kord örnekleri %10 formaldehit solüsyonu içerisinde konuldu. Örnekler fiksasyonu takiben parafin bloklara gömüldü ve mikrotom ile seri kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Elde edilen preparatlarda ışık mikroskobu bakışı ve lezyon alanı ölçümleri yapıldı. Spinal kord örnekleri değişiklikler Malinowsky ve ark. tarafından tanımlanan histopatolojik skorlamaya göre belirlendi.

Tablo 2: Malinowsky Skoru	
Anormal hücre yok	0 puan
Hemoraji, glial hücre reaksiyonu bu değişikliklerden birkaç alanda görülmesi	1 puan
Gri cevherde belirgin nekroz, büyük hemoraji ve yaygın demiyelinizasyon, fibrozis ve inflamatuvar hücrelerin varlığı	2 puan

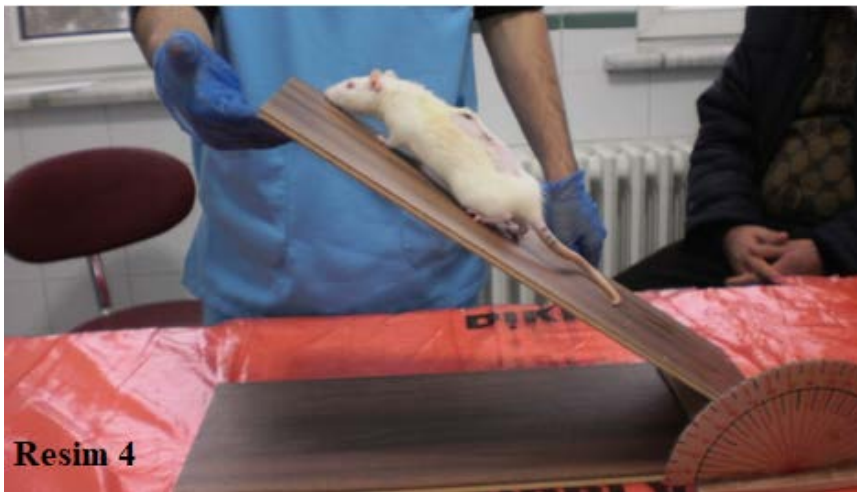
3.2. Drummond Moor Testi

Gözleme dayanan nörolojik muayene yöntemidir. Ratlar için geliştirilmiştir (Gezici ve ark 2017). Çalışmamızda 1. ve 7. günlerde tüm ratlara uygulanmıştır.

Tablo 3 : Drummond Moor Testi	
0	Paraplejik, alt ekstremitede motor fonksiyon yok.
1	Alt ekstremitede motor fonksiyon zayıf, sadece yer çekimine karşı zayıf hareket.
2	Orta derecede alt ekstremitde motor fonksiyonu, yer çekimine karşı güç iyi fakat bacaklarını vücudun altına çekemiyor.
3	Motor fonksiyon iyi, bacaklarını vücudun altına çekebiliyor.
4	Motor fonksiyon çok iyi, zıplayabiliyor. Normal motor fonksiyon.

3.3. Eğik Düzlem Testi

Ratların fonksiyonel iyileşmeleri Rivliv ve Tator tarafından tanımlanan ve deneysel akut omurilik yaralanmalarında sıkça kullanılan bir testtir (Joseph ve ark 1983). Çalışmamızda eğik düzlem testi deneklere uygulandı. Denekler düzgün zemin üzerinde yere paralel olarak konumlanan, 60 dereceye kadar açılanabilen bir platform üzerine yerleştirildi. Daha sonra platform yavaş yavaş kaldırılarak en son 5 saniye boyunca kalabildiği en yüksek açı test açısı olarak kabul edildi ve veriler kaydedildi.



Resim 4

3.4 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS istatistik programının 20.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Normal dağılıma uygunluk analizi, değişim katsayısı grafikler ile değerlendirildi. Çoklu karşılaştırmalar için Kruskal Wallis-varyans analizi uygulandı. İkili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arası, öncesi ve sonrası karşılaştırmalar için Wilcoxon Signed Rank test kullanıldı. Tüm karşılaştırmalarda $p < 0,05$ anlamlılık düzeyi kabul edildi.

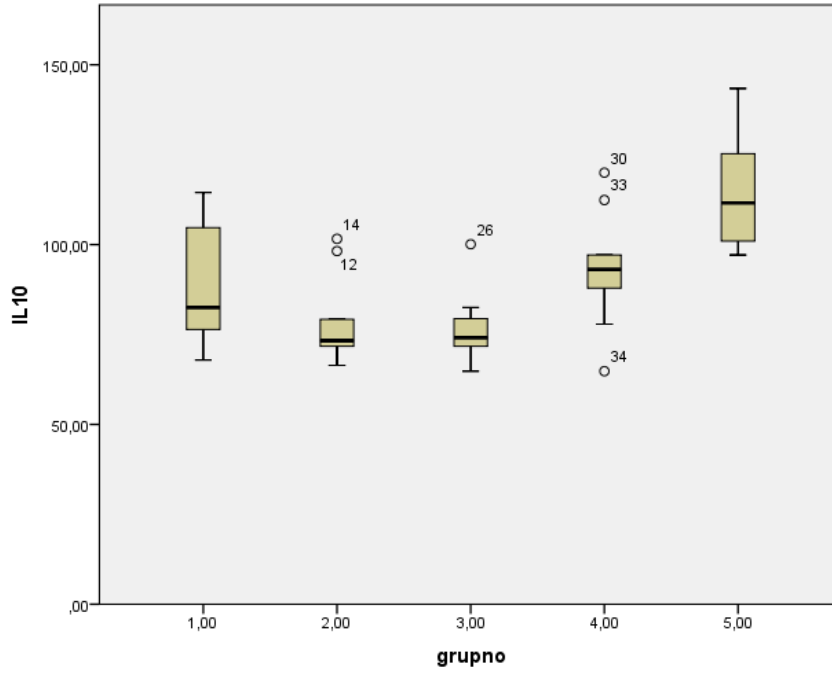


4. BULGULAR

4.1. Serum Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi

No	Grup No	Rat No	IL-10 pg/ml	TNF α pg/ml	TAS mmol trolax Equivalent/L	TOS μ mol H ₂ O ₂ Equivalent/L	TBARS nmol/ml	OS İndeks TOS/TAS
1	1	1	106,2	31,4	0,94	16,7	5,1	17,76
2	1	2	89,4	30,0	0,81	12,8	5,1	15,8
3	1	3	104,7	28,4	0,84	16,3	5,6	19,4
4	1	4	68,7	29,8	0,69	12,7	5,0	18,4
5	1	5	76,4	34,1	1,09	13,5	6,0	12,38
6	1	6	82,5	34,1	1,02	20,3	5,8	19,9
7	1	7	77,1	30,4	0,99	19,5	6,1	19,69
8	1	8	114,5	32,3	1,25	16,5	6,2	13,2
9	1	9	67,9	29,7	0,84	19,7	6,1	23,45
10	2	1	79,2	28,8	0,91	15,5	4,4	17,03
11	2	2	71,0	25,8	0,85	15,3	4,5	18
12	2	3	98,2	29,7	0,85	13,5	4,2	15,88
13	2	4	73,3	25,3	0,77	15,5	4,8	20,12
14	2	5	101,6	31,8	1,06	13,0	4,4	12,26
15	2	6	66,4	27,0	0,86	14,0	5,2	16,27
16	2	7	71,7	27,0	0,68	12,8	4,8	18,82
17	2	8	72,5	32,3	0,92	18,2	4,3	19,78
18	2	9	76,4	27,5	1,10	20,7	4,8	18,81
19	3	1	71,7	30,4	0,98	14,8	6,9	15,1
20	3	2	74,1	31,2	0,87	14,2	6,1	16,32
21	3	3	64,8	32,7	1,17	22,2	6,2	18,9
22	3	4	78,7	34,1	0,84	15,3	6,1	18,21
23	3	5	71,7	34,8	0,94	14,7	6,9	15,63
24	3	6	65,6	35,7	0,80	18,5	7,0	23,12
25	3	7	82,5	36,9	1,01	15,7	6,4	15,54
26	3	8	100,1	33,7	1,10	21,2	6,5	19,2
27	3	9	79,4	32,1	0,98	18,8	6,8	19,18
28	4	1	97,1	25,3	1,12	19,2	2,8	17,14
29	4	2	77,9	27,3	0,90	12,8	3,2	14,22
30	4	3	120,0	28,8	0,93	17,7	3,0	19,03
31	4	4	87,9	28,8	0,96	11,4	3,3	11,87
32	4	5	97,1	29,9	1,21	17,3	3,2	14,29
33	4	6	112,4	29,6	0,85	11,0	3,0	12,9
34	4	7	64,8	32,1	1,25	12,2	2,7	9,76
35	4	8	92,0	29,2	1,04	15,1	2,9	14,51
36	4	9	93,1	28,3	1,07	14,5	3,3	13,55
37	5	1	143,4	42,7	1,18	16,8	1,9	14,23
38	5	2	111,6	31,4	0,88	11,3	2,6	12,84
39	5	3	101,0	32,7	0,98	12,3	2,5	12,55
40	5	4	115,5	35,6	1,07	14,2	2,5	13,27
41	5	5	139,6	35,7	1,06	11,9	2,7	11,22
42	5	6	125,3	37,7	1,00	13,0	2,3	13
43	5	7	100,2	33,2	1,13	20,5	2,5	18,14
44	5	8	97,1	36,5	1,03	11,5	2,1	11,16
45	5	9	109,2	34,5	1,01	14,0	2,7	13,86

4.1.1. Serum IL-10

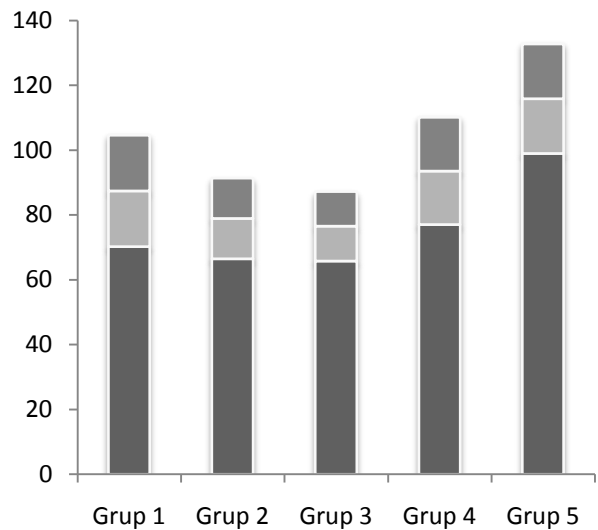


Grafik 3: Serum biyokimya verilerinde grup içi IL-10 değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre 2. grupta yer alan 12 ve 14 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 3 ve 5), 3. grupta yer alan 26 numaralı rat (grup içi numarası 8), 4. grupta yer alan 30, 33 ve 34 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 3, 6 ve 7) normal dağılıma uymamıştır. 1. ve 5. grupta yer alan bütün sonuçlar normal dağılıma uymaktadır.

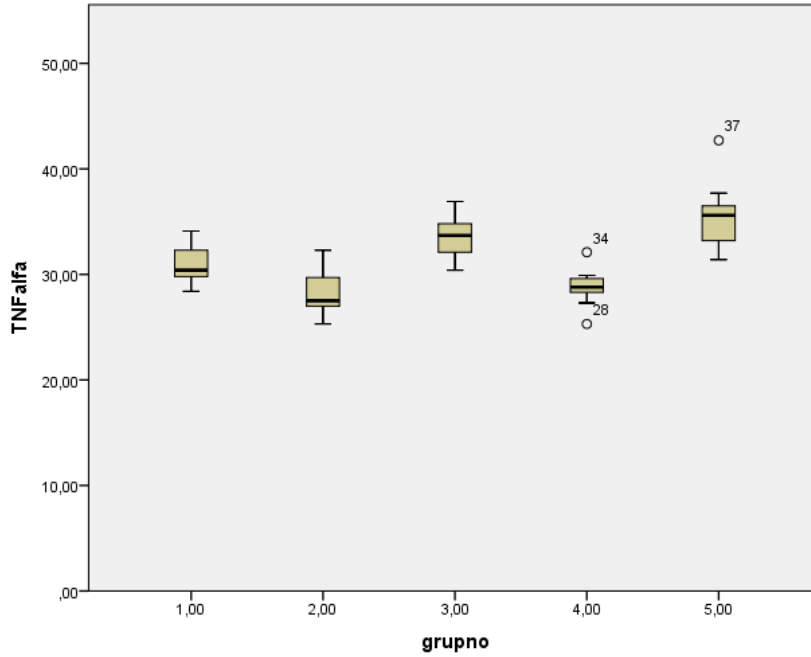
Tablo 5: Serum IL-10 Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	87,4	17,21
Grup 2	78,9	12,43
Grup 3	76,51	10,68
Grup 4	93,58	16,53
Grup 5	115,87	16,92

Grafik 4 : IL-10 Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.1.2. Serum TNF α

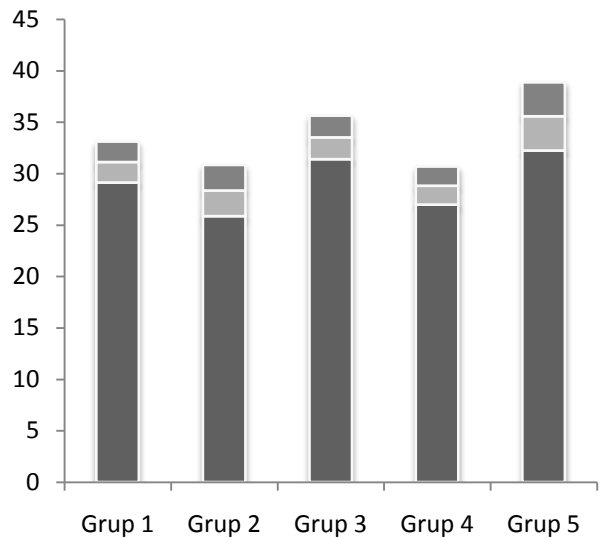


Grafik 5: Serum biyokimya verilerinde grup içi TNF α değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre 4. grupta yer alan 28 ve 34 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 1 ve 7), 5. grupta yer alan 37 numaralı ratlar (grup içi numarası 1), normal dağılıma uymamıştır. 1, 2 ve 3. grupta yer alan bütün sonuçlar normal dağılıma uymaktadır.

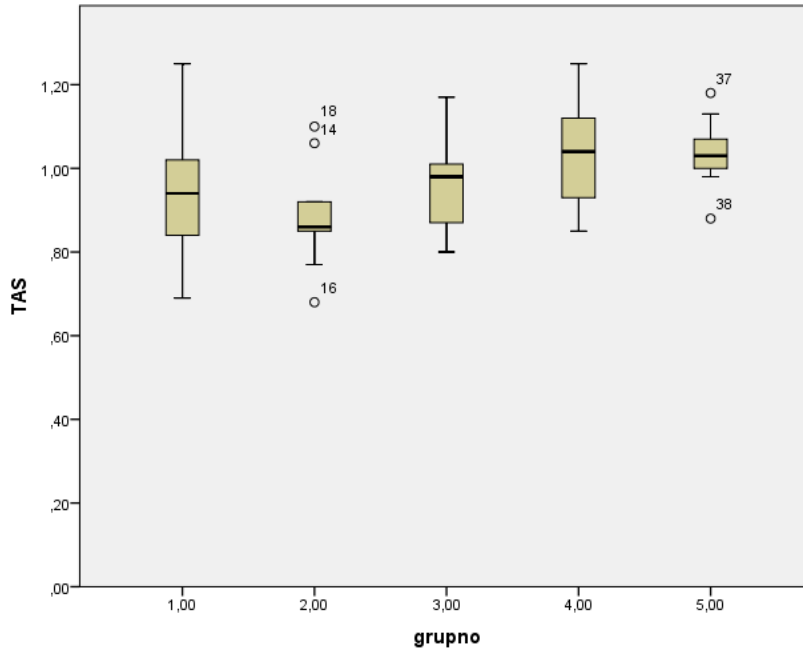
Tablo 6: Serum TNF α Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	31,1	2,00
Grup 2	28,35	2,49
Grup 3	33,51	2,12
Grup 4	28,81	1,85
Grup 5	35,55	3,32

Grafik 6: TNF α Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.1.3. Serum Total Antioksidan Status (TAS)

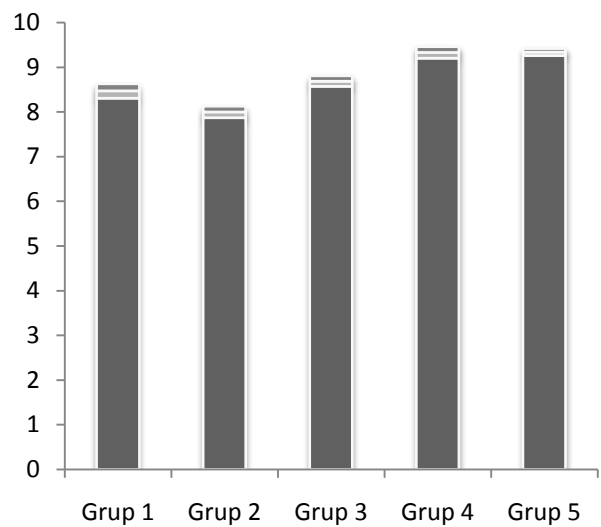


Grafik 7: Serum biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre 2. grupta yer alan 14,16 ve 18 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 5, 7 ve 9), 5. grupta yer alan 37 ve 38 numaralı rat (grup içi numaraları sırasıyla 1 ve 2), normal dağılıma uymamıştır. 1, 3 ve 4. grupta yer alan bütün sonuçlar normal dağılıma uymaktadır.

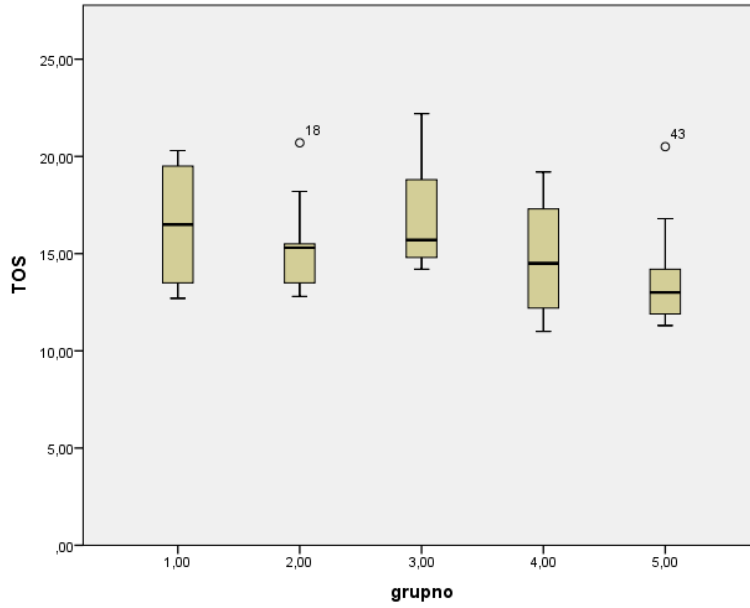
Tablo 7: Serum TAS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	8,47	0,16
Grup 2	8,00	0,13
Grup 3	8,69	0,12
Grup 4	9,33	0,13
Grup 5	9,34	0,08

Grafik 8: TAS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.1.4. Serum Total Oksidatif Stres (TOS)

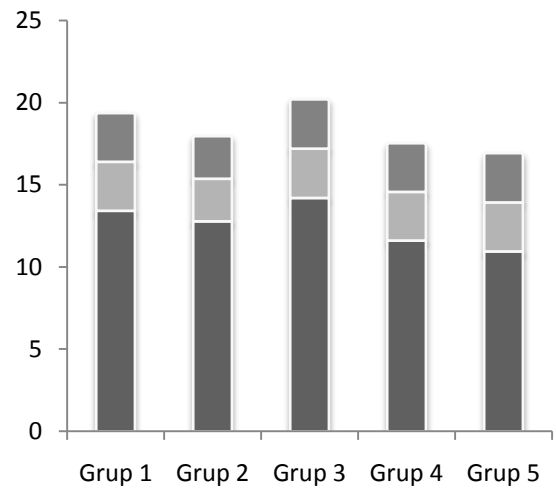


Grafik 9: Serum biyokimya verilerinde grup içi TOS değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre 2. grupta yer alan 18 numaralı rat (grup içi numarası 9), 5. grupta yer alan 43 numaralı rat (grup içi numarası 7) normal dağılıma uymamıştır. 1, 3 ve 4. grupta yer alan bütün sonuçlar normal dağılıma uymaktadır.

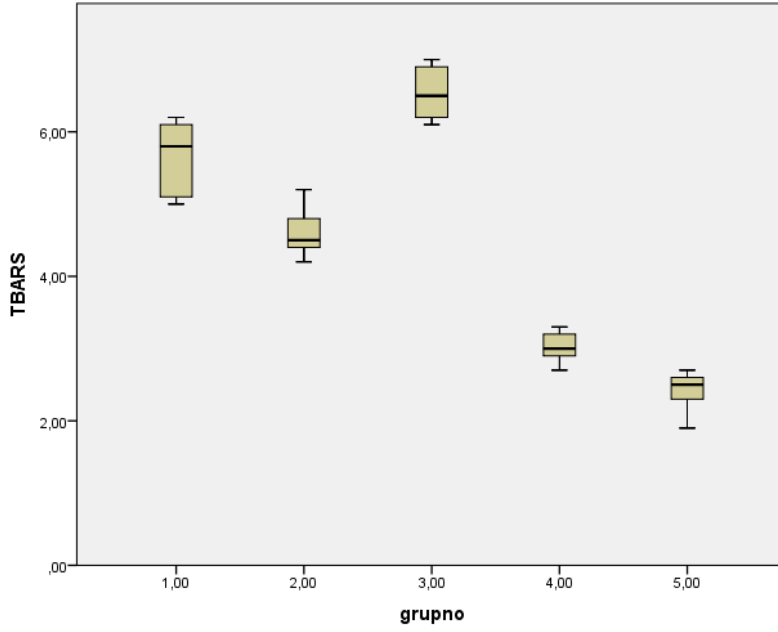
Tablo 8: Serum TOS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	16,4	2,97
Grup 2	15,38	2,59
Grup 3	17,2	3,00
Grup 4	14,57	2,96
Grup 5	13,94	2,99

Grafik 10: TOS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.1.5. Serum Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)

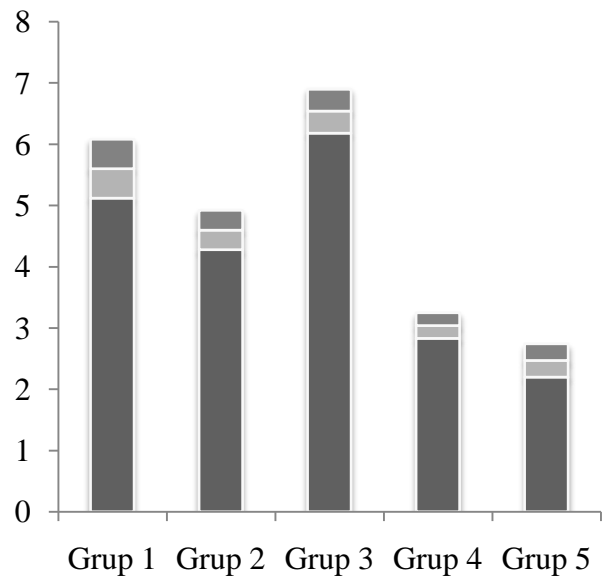


Grafik 11: Serum biyokimya verilerinde grup içi TBARS değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre tüm gruplar normal dağılıma uymaktadır.

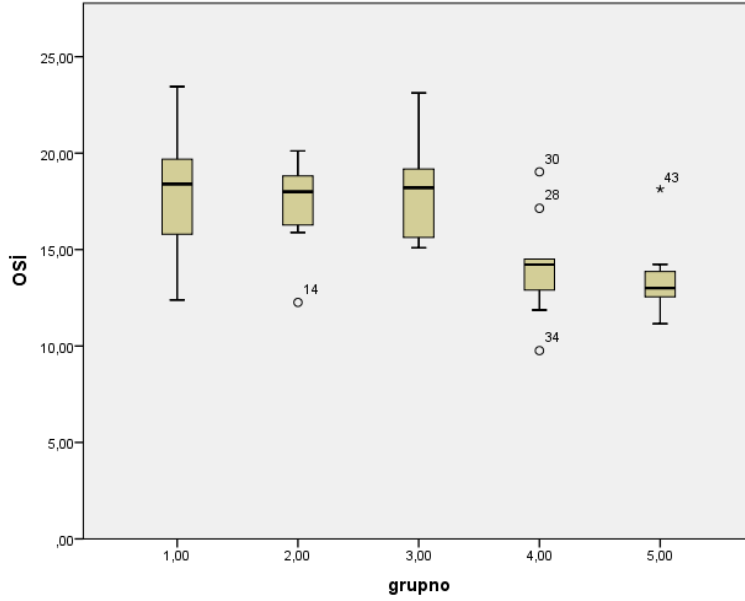
Tablo 9: Serum TBARS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	5,6	0,48
Grup 2	4,6	0,32
Grup 3	6,54	0,36
Grup 4	3,04	0,21
Grup 5	2,47	0,27

Grafik 12: TBARS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.1.6. Serum Oksidatif Stres İndeks(OSI)

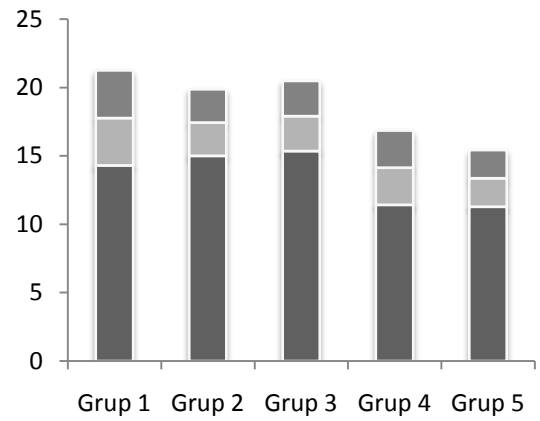


Grafik 13: Serum biyokimya verilerinde grup içi OSI değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre 2. grupta yer alan 14 numaralı rat (grup içi numarası 5), 4. grupta yer alan 28, 30 ve 34 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 1, 3 ve 7) ve 5. grupta 43 numaralı rat (grup içi numarası 7) normal dağılıma uymamıştır. 1 ve 3. grupta yer alan bütün sonuçlar normal dağılıma uymaktadır.

Tablo 10: Serum OSI Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	17,77	3,48
Grup 2	17,44	2,43
Grup 3	17,91	2,56
Grup 4	14,14	2,72
Grup 5	13,36	2,07

Grafik 14: OSI Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında TAS ve TOS için anlamlı fark olmadığı görüldü. ($p < 0,05$)

Tablo 11: Serum Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi						
	IL-10	TNF α	TAS	TOS	TBARS	OS İndeks
Asymp. Sig. (P değeri)	0,001	0,000	<u>0,099</u>	<u>0,099</u>	0,000	0,003

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

Grup 1 ve grup 2 arasında TBARS'ın anlamlı fark oluşturduğu görüldü. (p: 0,00)

Grup 1 ve grup 3 arasında TBARS'ın anlamlı fark oluşturduğu görüldü. (p: 0,00)

Grup 1 ve grup 4 arasında TBARS'ın anlamlı fark oluşturduğu görüldü. (p: 0,00)

Grup 1 ve grup 5 arasında IL-10 (p:0,008), TNF α (p:0,002), TBARS ın (p: 0,00) anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 2 ve grup 3 arasında TNF α (p: 0,001) TBARS (p: 0,00) ın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 2 ve grup 4 arasında TBARS ın anlamlı fark oluşturduğu görüldü. (p: 0,00)

Grup 2 ve grup 5 arasında IL-10 (p: 0,00), TNF α (p: 0,00), TBARS (p: 0,00), OSI (p: 0,008) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 3 ve grup 4 arasında TNF α (p: 0,001), TBARS (p: 0,00) OSI (p:0,007) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

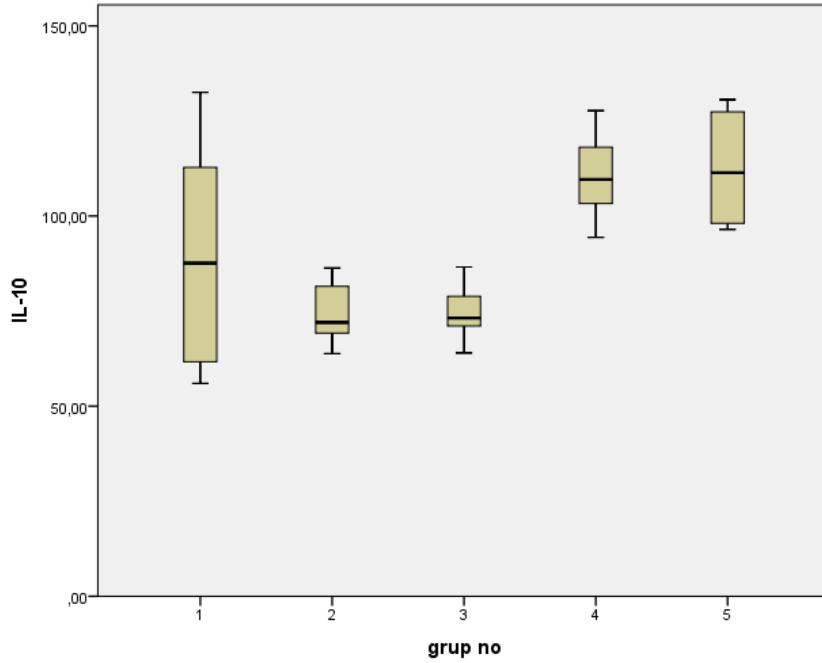
Grup 3 ve grup 5 arasında IL-10 (p: 0,00), TBARS (p: 0,00), OSI (p: 0,001) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 4 ve grup 5 arasında TNF α (p: 0,00) TBARS (p: 0,00) ın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

4.2. Doku Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi

Tablo 12: Doku Biyokimya Verileri								
No	Grup No	Rat No	IL-10 pg/mg protein	TNF α pg/mg protein	TAS mmol trolox Equivalent/g protein	TOS mmol H ₂ O ₂ Equivalent/g protein	TBARS nmol/mg protein	OS İndeks TOS/TAS
1	1	1	58,5	80,8	0,25	4,8	3,3	19,2
2	1	2	61,7	67,1	0,27	3,8	3,3	14,1
3	1	3	56,0	86,9	0,25	4,7	3,4	18,8
4	1	4	125,9	73,0	0,27	4,8	3,2	17,8
5	1	5	132,5	78,4	0,25	4,6	3,3	18,4
6	1	6	112,8	64,4	0,27	4,9	3,3	18,1
7	1	7	77,5	63,8	0,25	4,1	3,3	16,4
8	1	8	104,9	86,4	0,27	4,7	3,2	17,4
9	1	9	87,6	72,1	0,25	5,0	2,9	20,0
10	2	1	84,4	117,6	0,22	4,6	4,6	20,9
11	2	2	79,2	110,0	0,18	5,1	4,4	28,3
12	2	3	81,5	127,7	0,21	5,3	4,1	25,2
13	2	4	66,6	88,3	0,20	5,6	4,4	28,0
14	2	5	69,2	78,2	0,22	4,6	4,5	20,9
15	2	6	69,4	79,8	0,23	5,4	4,6	23,5
16	2	7	63,8	85,2	0,21	6,1	4,2	29,0
17	2	8	86,3	115,3	0,20	5,0	4,5	25,0
18	2	9	72,0	96,2	0,21	4,6	4,5	21,9
19	3	1	77,0	81,0	0,35	6,5	6,6	18,6
20	3	2	70,9	75,2	0,36	6,8	6,0	18,9
21	3	3	80,7	84,6	0,32	6,1	6,0	19,1
22	3	4	71,1	113,6	0,34	6,6	6,5	19,4
23	3	5	78,9	126,3	0,33	6,2	6,5	18,8
24	3	6	73,2	128,2	0,35	7,2	6,2	20,6
25	3	7	64,0	86,3	0,35	7,1	6,4	20,3
26	3	8	86,6	116,7	0,33	6,7	6,6	20,3
27	3	9	72,3	97,4	0,32	6,8	6,8	21,3
28	4	1	118,1	113,2	0,45	4,2	3,1	9,3
29	4	2	109,6	112,5	0,42	3,8	2,7	9,0
30	4	3	114,0	103,1	0,43	4,2	2,7	9,8
31	4	4	119,4	99,3	0,43	4,2	2,5	9,8
32	4	5	103,3	113,8	0,43	4,3	2,9	10,0
33	4	6	101,6	121,7	0,40	4,9	2,9	12,3
34	4	7	94,4	92,6	0,44	4,7	2,6	10,7
35	4	8	127,7	125,3	0,43	4,3	2,8	10,0
36	4	9	106,6	104,6	0,41	4,1	2,4	10,0
37	5	1	119,7	70,4	0,48	3,2	2,7	6,7
38	5	2	127,4	80,6	0,44	3,2	2,2	7,3
39	5	3	127,6	82,1	0,53	2,5	2,4	4,7
40	5	4	111,4	71,1	0,55	2,8	2,5	5,1
41	5	5	97,0	71,1	0,46	2,6	2,5	5,7
42	5	6	98,1	75,3	0,47	2,9	2,2	6,2
43	5	7	96,5	63,8	0,54	2,6	2,3	4,8
44	5	8	130,6	86,4	0,51	3,6	2,3	7,1
45	5	9	109,0	72,1	0,53	2,9	2,2	5,5

4.2.1. Doku IL-10

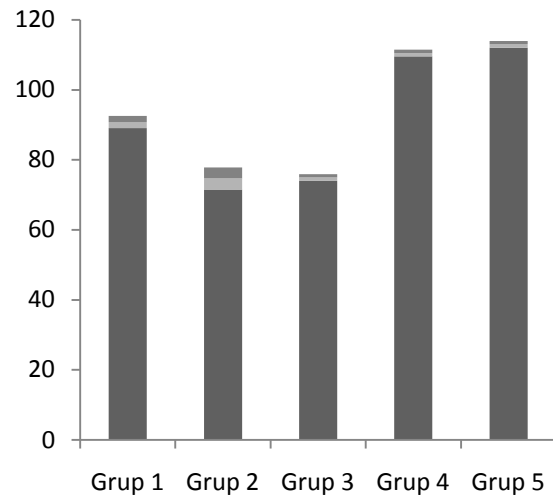


Grafik 15: Doku biyokimya verilerinde grup içi IL-10 değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre tüm gruplar normal dağılıma uymaktadır.

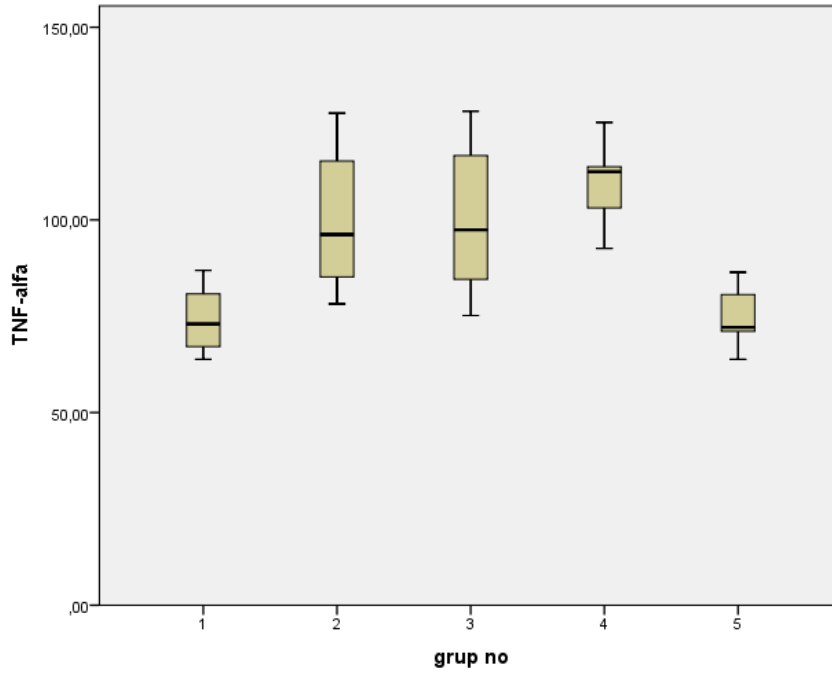
Tablo 13: Doku IL-10 Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	90,82	1,73
Grup 2	74,71	3,17
Grup 3	74,96	0,94
Grup 4	110,52	0,95
Grup 5	113,03	0,97

Grafik 16: IL-10 Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.2.2. Doku TNF α

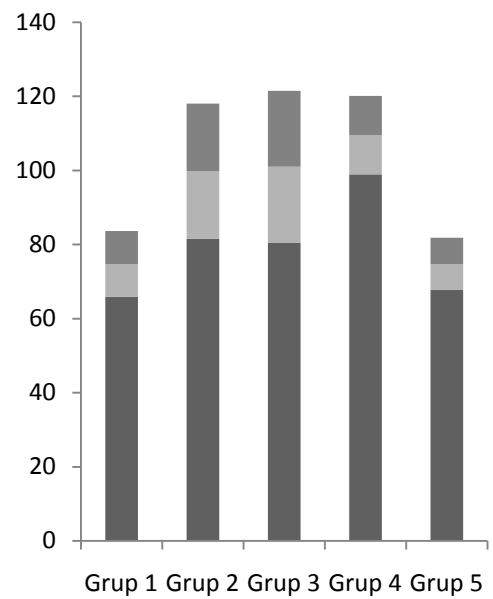


Grafik 17: Doku biyokimya verilerinde grup içi TNF α değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre tüm gruplar normal dağılıma uymaktadır.

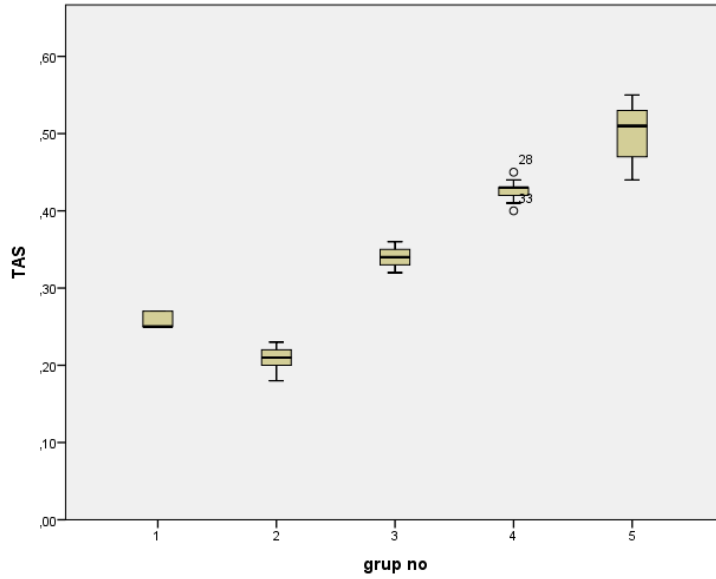
Tablo 14: Doku TNF α Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	74,76	8,86
Grup 2	99,81	18,24
Grup 3	101,03	20,45
Grup 4	109,56	10,57
Grup 5	74,76	7,04

Grafik 18: TNF α Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.2.3. Doku Total Antioksidan Status (TAS)

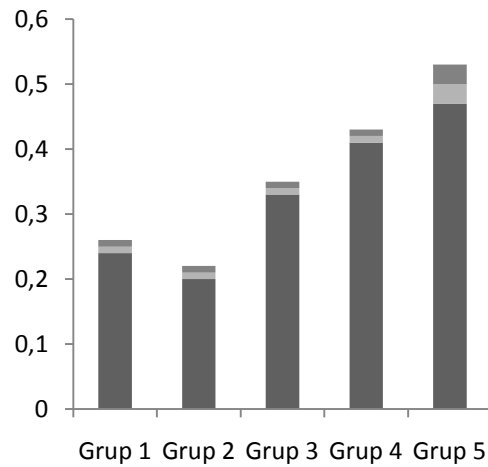


Grafik 19: Doku biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre 4. grupta yer alan 28 ve 33 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 1 ve 6) normal dağılıma uymamıştır. 1, 2, 3 ve 5. grupta yer alan bütün sonuçlar normal dağılıma uymaktadır.

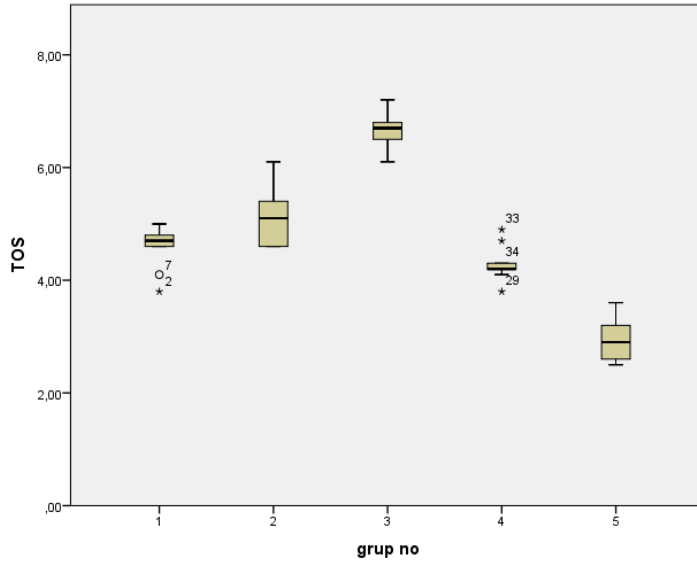
Tablo 15: Doku TAS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	0,25	0,01
Grup 2	0,21	0,01
Grup 3	0,34	0,01
Grup 4	0,42	0,01
Grup 5	0,50	0,03

Grafik 20: TAS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.2.4. Doku Total Oksidatif Stres (TOS)

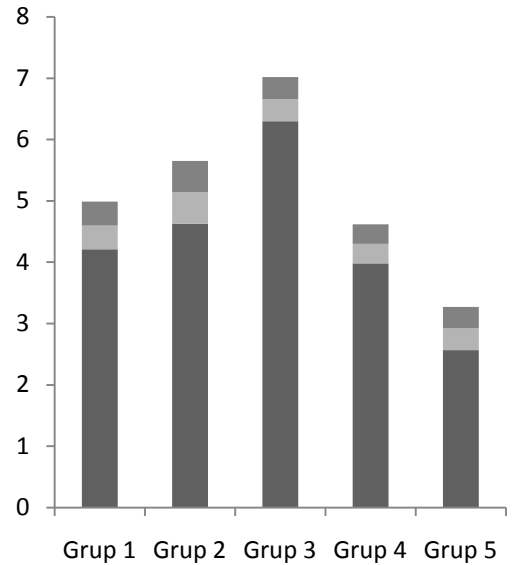


Grafik 21:Doku biyokimya verilerinde grup içi TOS değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre 1. grupta yer alan 2 ve 7 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 2 ve 7) ve 4. grupta yer alan 29, 33 ve 34 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 2, 6 ve 7) normal dağılıma uymamıştır. 2, 3 ve 5. grupta yer alan bütün sonuçlar normal dağılıma uymaktadır.

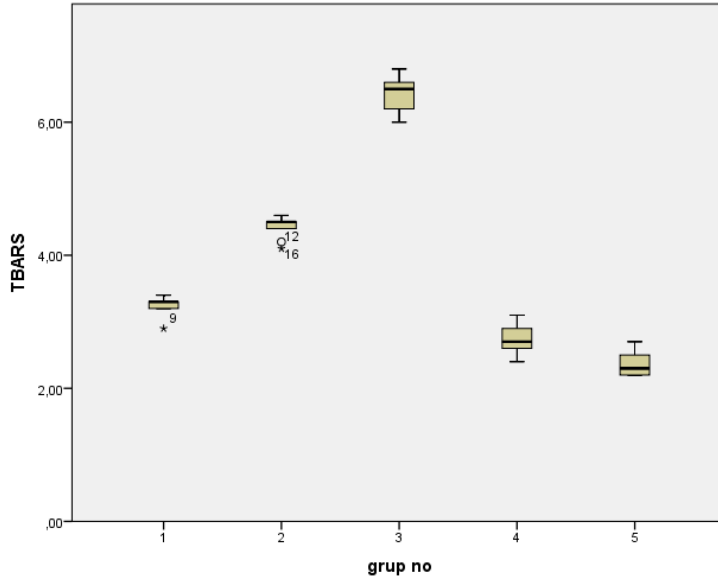
Tablo 16: Doku TOS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	4,60	0,39
Grup 2	5,14	0,51
Grup 3	6,66	0,36
Grup 4	4,3	0,32
Grup 5	2,92	0,35

Grafik 22:TOS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.2.5. Doku Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)

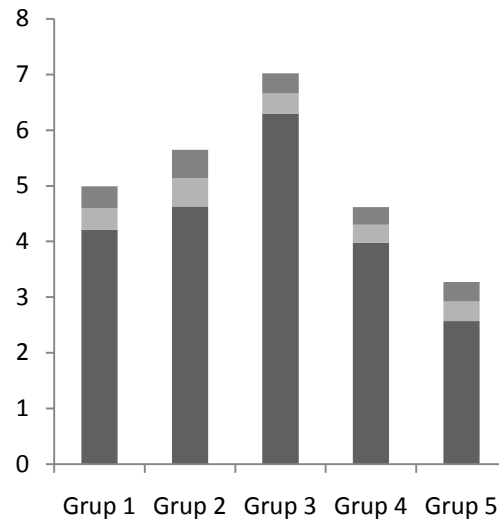


Grafik 23: Doku biyokimya verilerinde grup içi TBARS değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre 1. grupta yer alan 9 numaralı rat (grup içi numarası 9) ve 2. grupta yer alan 12 ve 16 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 3 ve 7) normal dağılıma uymamıştır. 3, 4 ve 5. grupta yer alan bütün sonuçlar normal dağılıma uymaktadır.

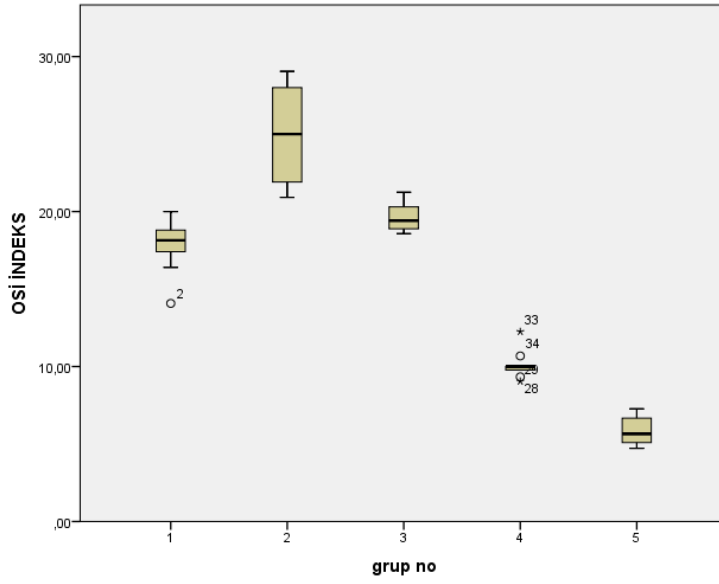
Tablo 17: Doku TBARS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	3,24	0,14
Grup 2	4,42	0,17
Grup 3	6,4	0,27
Grup 4	2,73	0,21
Grup 5	4,36	0,17

Grafik 22: TOS Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



4.2.6. Doku Oksidatif Stres İndeks(OSI)

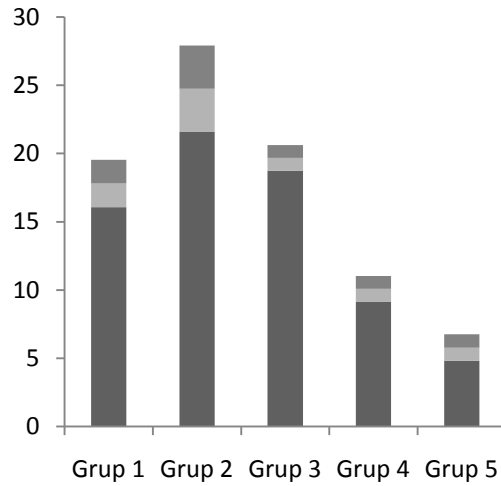


Grafik 25: Doku biyokimya verilerinde grup içi OSI değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bu grafiğe göre 1. grupta yer alan 2 numaralı rat (grup içi numarası 2) ve 4. grupta yer alan 28, 29, 33 ve 34 numaralı ratlar (grup içi numaraları sırasıyla 1, 2, 6 ve 7) normal dağılıma uymamıştır. 2, 3 ve 5. grupta yer alan bütün sonuçlar normal dağılıma uymaktadır.

Tablo 18: Doku OSI Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)	Standart sapma
Grup 1	17,8	1,73
Grup 2	24,75	3,17
Grup 3	19,67	0,94
Grup 4	10,08	0,95
Grup 5	5,78	0,97

Grafik 26: OSI Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri



Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında bütün gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. ($p < 0,05$)

Tablo 19: Doku Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi						
	IL-10	TNF α	TAS	TOS	TBARS	OS INDEKS
Asymp. Sig. (P değeri)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

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

Grup 1 ve grup 2 arasında TNF α (p: 0,004), TAS(p: 0,00), TBARS(p: 0,00), OSI(p: 0,00) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 1 ve grup 3 arasında TNF α (p: 0,007), TAS(p: 0,00), TOS(p: 0,00) TBARS (p: 0,00), OSI (p: 0,008) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 1 ve grup 4 arasında TNF α (p: 0,00), TAS(p: 0,00), TBARS (p: 0,01), OSI (p:0,00) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 1 ve grup 5 arasında TAS(p: 0,00), TOS (p: 0,00), TBARS(p: 0,00), OSI (p: 0,00) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 2 ve grup 3 arasında TAS(p: 0,00), TOS(p: 0,00), TBARS(p: 0,00), OSI (p: 0,00) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 2 ve grup 4 arasında IL-10(p: 0,00), TAS(p: 0,00), TOS(p: 0,001), TBARS(p: 0,00), OSI (p: 0,00) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 2 ve grup 5 arasında tüm parametrelerde anlamlı fark oluşturduğu görüldü. (tüm parametreler için p: 0,00)

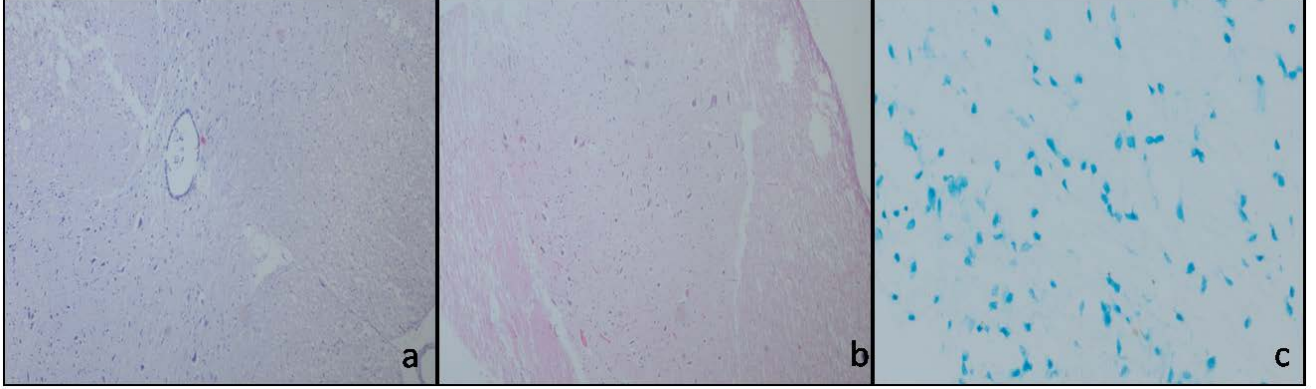
Grup 3 ve grup 4 arasında IL-10 (p: 0,00), TAS(p: 0,00), TOS(p: 0,00) TBARS(p: 0,00), OSI (p: 0,00) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Grup 3 ve grup 5 arasında tüm parametrelerde anlamlı fark oluşturduğu görüldü. (tüm parametreler için p: 0,00)

Grup 4 ve grup 5 arasında TNF α (p: 0,00), TAS(p: 0,00), TOS(p: 0,00), TBARS(p: 0,002), OSI (p: 0,00) nın anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

4.3. Histopatoloji Verileri ve İstatistiksel Analizi

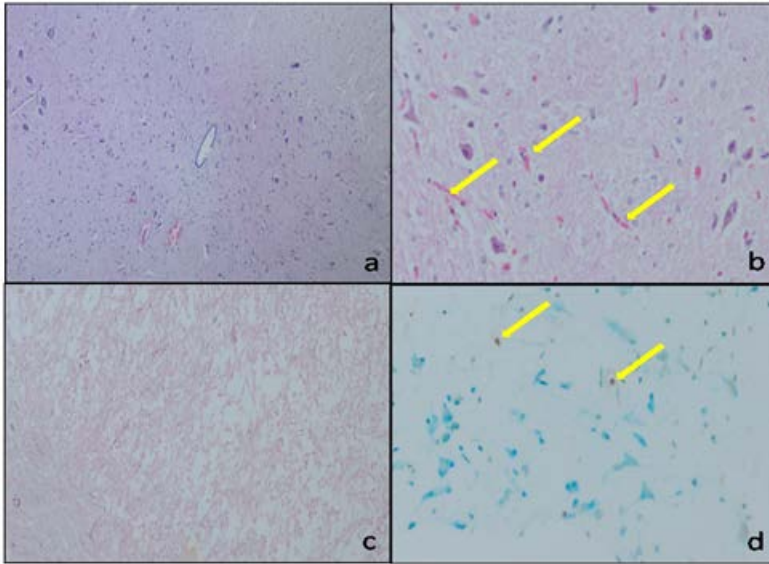
Resim 5



Resim 5: Malinowsky Skoru 0 (Normal)

a-x40 H&E Anormal hücre yok. b- x40 H&E Anormal hücre yok. c- x200 Tunel boyamada apoptosis gösteren hücre yok.

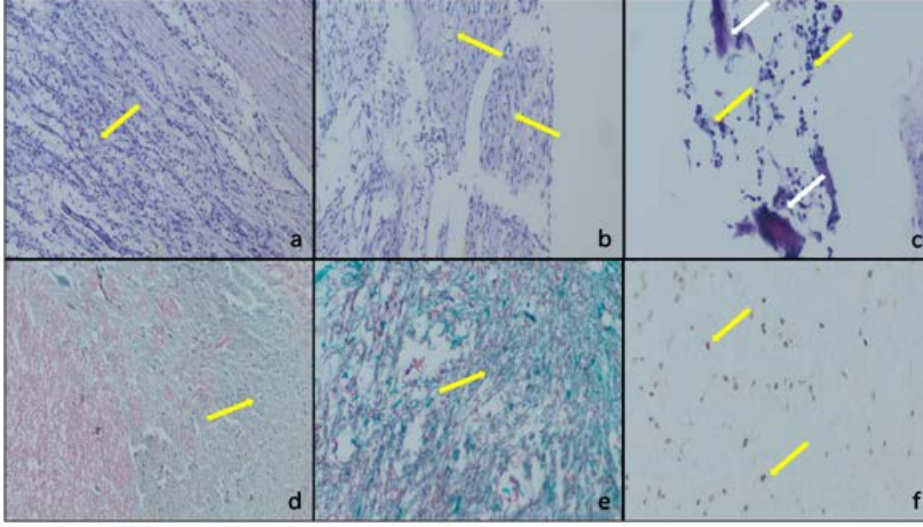
Resim 6



Resim 6: Malinowsky Skoru 1

a- x40 H&E b- x200 H&E Minimal kanama alanları (sarı oklar). c- x100 MTK boyamada fibrozis yok. d- x200 Tunel boyamada pozitif hücreler (sarı oklar).

Resim 7



Resim 7: Malinowsky Skoru 2

a- x100 H&E İnflamatuar hücreler (sarı ok). b- x100 H&E Gliozis alanları (Fibrozis) (sarı ok). c- x200 H&E Sarı ok:inflamatuar hücreler beyaz oklar kalsifikasyon alanları
d- x100 MTK boyamada fibrozis alanları (yeşil ile boyanma) e- x200 MTK boyamada fibrozis alanları (yeşil ile boyanma) f- x200 Tunel boyamada pozitif hücreler (sarı oklar).

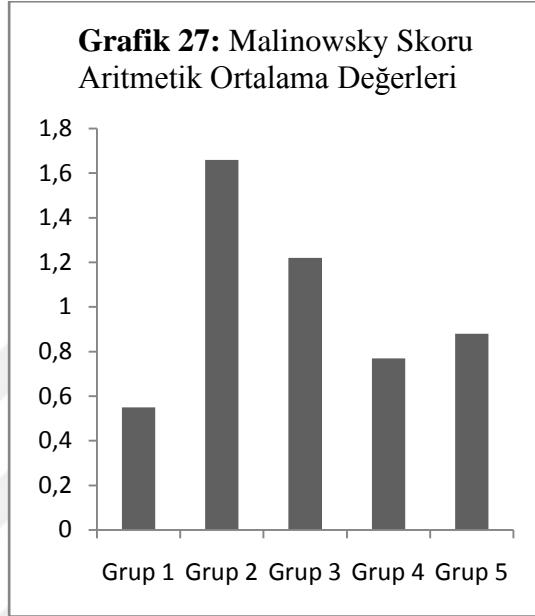
MTK boyama ile fibrozis değerlendirildi. Tunel yöntemi ile apoptozis gösteren hücreler değerlendirildi. Kahverenkli boyanma pozitif kabul edildi ve bu hücrelerin oranları yüzde olarak verildi.

Tablo 20: Histopatoloji Verileri				
No	Grup No	Rat No	Malinowsky Skoru	Tunel Yüzdesi
1	1	1	0	1
2	1	2	1	2
3	1	3	0	0
4	1	4	0	0
5	1	5	0	0
6	1	6	1	1
7	1	7	2	3
8	1	8	1	1
9	1	9	0	0
10	2	1	1	3
11	2	2	2	1
12	2	3	2	2
13	2	4	2	10
14	2	5	2	5
15	2	6	2	5
16	2	7	1	2
17	2	8	1	3
18	2	9	2	10
19	3	1	0	1
20	3	2	1	2
21	3	3	2	10
22	3	4	2	5
23	3	5	2	5
24	3	6	2	2
25	3	7	1	2
26	3	8	0	1
27	3	9	1	2
28	4	1	2	5
29	4	2	1	2
30	4	3	1	2
31	4	4	1	2
32	4	5	2	3
33	4	6	0	2
34	4	7	0	1
35	4	8	0	1
36	4	9	0	1
37	5	1	2	5
38	5	2	0	1
39	5	3	0	1
40	5	4	0	1
41	5	5	2	5
42	5	6	2	3
43	5	7	0	1
44	5	8	0	1
45	5	9	2	3

4.3.1. Malinowsky Skoru

Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında bütün gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü. ($p = 0,061$) İstatistik anlamlılık olmadığı için gruplar arası karşılaştırma yapılmadı.

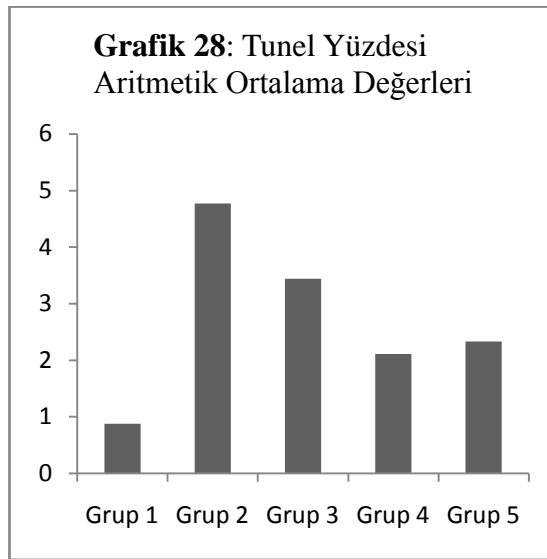
Gruplar	Aritmetik ortalama (mean)
Grup 1	0,55
Grup 2	1,66
Grup 3	1,22
Grup 4	0,77
Grup 5	0,88



4.3.2. Tünel Yüzdesi

Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. ($p = 0,01$)

Gruplar	Aritmetik Ortalama Değerleri (mean)
Grup 1	0,88
Grup 2	4,77
Grup 3	3,44
Grup 4	2,11
Grup 5	2,33



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

Grup 1 ve grup 2 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($P=0,003$) görüldü.

Grup 1 ve grup 3 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,013$) görüldü.

Grup 1 ve grup 4 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,032$) görüldü.

Grup 1 ve grup 5 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,040$) görüldü.

Grup 2 ve grup 3 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,296$) görüldü.

Grup 2 ve grup 4 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,056$) görüldü.

Grup 2 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,101$) görüldü.

Grup 3 ve grup 4 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,426$) görüldü.

Grup 3 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,382$) görüldü.

Grup 4 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,926$) görüldü.

4.4. Fiziksel Test Verileri ve İstatistiksel Analizi

Tablo 23: Fiziksel test verileri						
No	Grup No	Rat No	Eğik Düzlem Testi Deneş Öncesi <i>Açı derecesi</i>	Eğik Düzlem Testi Deneş Sonrası <i>Açı derecesi</i>	Drummond Moore Deneş Öncesi	Drummond Moore Deneş Sonrası
1	1	1	40	40	4	4
2	1	2	50	50	4	4
3	1	3	40	40	4	4
4	1	4	60	60	4	4
5	1	5	50	50	4	4
6	1	6	50	50	4	4
7	1	7	50	50	4	4
8	1	8	50	50	4	4
9	1	9	50	50	4	4
10	2	1	40	20	4	2
11	2	2	60	40	4	1
12	2	3	50	30	4	2
13	2	4	50	30	4	2
14	2	5	50	30	4	1
15	2	6	50	30	4	0
16	2	7	50	30	4	2
17	2	8	50	30	4	1
18	2	9	60	50	4	0
19	3	1	50	30	4	2
20	3	2	50	30	4	1
21	3	3	60	40	4	2
22	3	4	50	40	4	0
23	3	5	50	40	4	1
24	3	6	50	30	4	2
25	3	7	50	30	4	2
26	3	8	50	30	4	1
27	3	9	50	40	4	2
28	4	1	50	40	4	2
29	4	2	50	40	4	3
30	4	3	50	50	4	2
31	4	4	50	40	4	2
32	4	5	50	40	4	3
33	4	6	50	50	4	2
34	4	7	50	50	4	3
35	4	8	50	40	4	3
36	4	9	50	40	4	3
37	5	1	50	40	4	3
38	5	2	40	40	4	3
39	5	3	50	50	4	3
40	5	4	50	50	4	3
41	5	5	50	40	4	3
42	5	6	50	50	4	3
43	5	7	50	50	4	3
44	5	8	40	40	4	3
45	5	9	50	50	4	2

4.4.1. Eğik Düzlem Testi

Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. ($p = 0,00$)

Her grupta eğik düzlem testi deney öncesi ve sonrası tekrar edildiği için ve veriler bağımlı nonparametrik değişkenlerden oluştuğu için Wilcoxon Signed Ranks Test grup içi karşılaştırmalarda uygulanmıştır. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

Grup 1; eğik düzlem testi deney öncesi ve sonrası verilerinde anlamlı farklılık yoktur. ($p=1.0$)

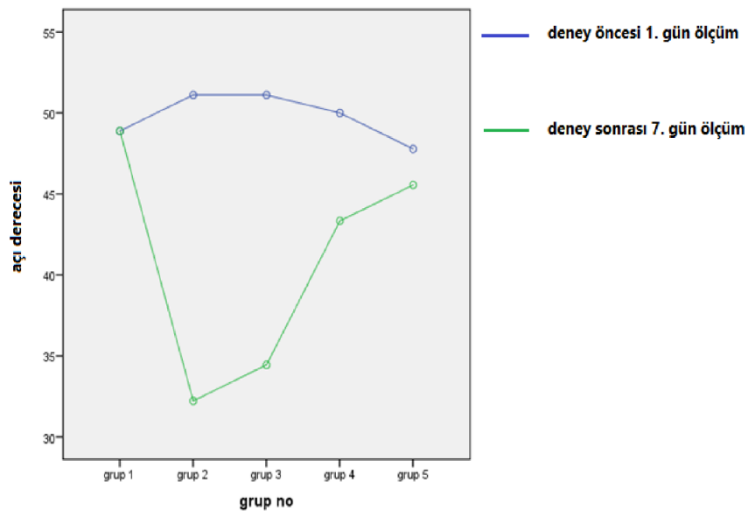
Grup 2; eğik düzlem testi deney öncesi ve sonrası verilerinde anlamlı **farklılık vardır**. ($p= 0,004$)

Grup 3; eğik düzlem testi deney öncesi ve sonrası verilerinde anlamlı **farklılık vardır**. ($p= 0,006$)

Grup 4; eğik düzlem testi deney öncesi ve sonrası verilerinde anlamlı **farklılık vardır**. ($p= 0,014$)

Grup 5; eğik düzlem testi deney öncesi ve sonrası verilerinde anlamlı farklılık yoktur. ($p= 0,157$)

Grafik 29: Eğik Düzlem Testi Grafiği



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

Grup 1 ve grup 2 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($P=0,001$) görüldü.

Grup 1 ve grup 3 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,001$) görüldü.

Grup 1 ve grup 4 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,053$) görüldü.

Grup 1 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,237$) görüldü.

Grup 2 ve grup 3 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,333$) görüldü.

Grup 2 ve grup 4 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,005$) görüldü.

Grup 2 ve grup 5 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,003$) görüldü.

Grup 3 ve grup 4 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,005$) görüldü.

Grup 3 ve grup 5 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,002$) görüldü.

Grup 4 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,357$) görüldü.

4.4.2. Drummond Moore Testi

Kruskal-Wallis varyans analizinde gruplar arası çoklu karşılaştırma yapıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. ($p = 0,00$)

Her grupta Drummond Moore testi deney öncesi ve sonrası tekrar edildiği için ve veriler bağımlı nonparametrik değişkenlerden oluştuğu için Wilcoxon Signed Ranks Testi grup içi karşılaştırmalarda uygulanmıştır. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ kabul edilmiştir.

Grup 1; deney öncesi ve sonrası verilerde anlamlı farklılık yoktur. ($p=1.0$)

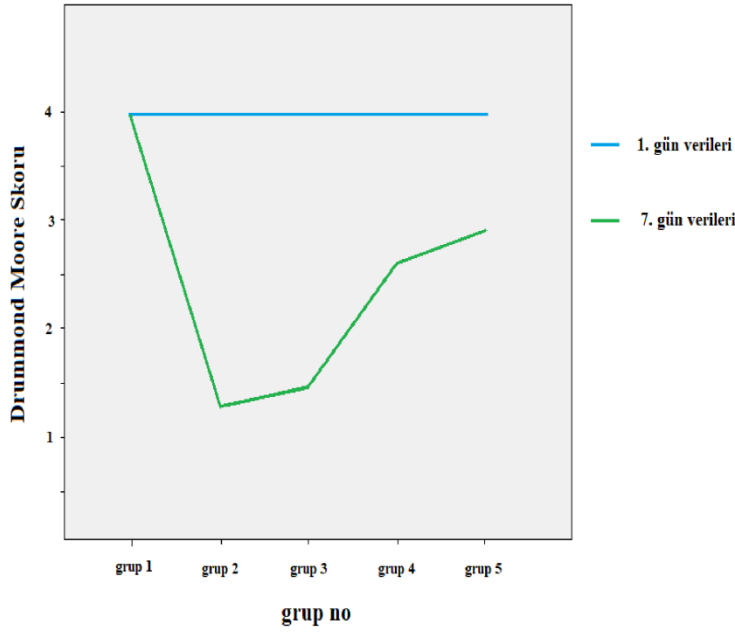
Grup 2; deney öncesi ve sonrası verilerde anlamlı **farklılık vardır**. ($p= 0,007$)

Grup 3; deney öncesi ve sonrası verilerde anlamlı **farklılık vardır**. ($p= 0,006$)

Grup 4; deney öncesi ve sonrası verilerde anlamlı **farklılık vardır**. ($p= 0,006$)

Grup 5; deney öncesi ve sonrası verilerde anlamlı **farklılık vardır**. ($p= 0,004$)

Grafik 30: Drummond Moore Testi Grafiği



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

Grup 1 ve grup 2 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($P=0,000$) görüldü.

Grup 1 ve grup 3 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,000$) görüldü.

Grup 1 ve grup 4 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,000$) görüldü.

Grup 1 ve grup 5 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,000$) görüldü.

Grup 2 ve grup 3 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,562$) görüldü.

Grup 2 ve grup 4 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,002$) görüldü.

Grup 2 ve grup 5 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,000$) görüldü.

Grup 3 ve grup 4 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,004$) görüldü.

Grup 3 ve grup 5 arasında; anlamlı **farklılık olduğu** ($p=0,000$) görüldü.

Grup 4 ve grup 5 arasında; anlamlı farklılık olmadığı ($p=0,125$) görüldü.

5. TARTIŞMA

SKT, primer yaralanma sonrasında ortaya çıkan vasküler patoloji, hücre ödemi, intrinsik hücrel mekanizmaların bozulduğu farklı faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklanan çok sayıda belirti ve semptomdan oluşur (Sekhon ve ark 2001).

Akut SKT, primer ve sekonder yaralanma mekanizmalarını içerir. Primer mekanizma, zarar verici etkinin neden olduğu ilk travmatik hasarla ilgilidir ve bu hasar geri döndürülemez. İlk travmadan birkaç dakika sonra başlayan sekonder mekanizmalar, spinal kord iskemisi, hücrel eksitotoksisite, iyonik düzensizlik ve serbest radikal aracılı peroksidasyon gibi işlemleri içerir (Pinchi ve ark 2019).

SKT ile ilgili tedavi araştırmaları geri döndürülebilir/önlenebilir özelliğinden dolayı sekonder mekanizmalar üzerinden yürütülmektedir. Biz de çalışmamızda sekonder mekanizmalar üzerinde etkili olabileceğini düşündüğümüz antiapoptotik, antiinflamatuvar, antioksidan etkinliği olan hesperidin molekülünü kullandık. Antioksidan etki serumda ve dokuda TAS, TOS, TBARS, OSI ile, antiinflamatuvar etki serumda ve dokuda TNF α , IL-10 ile, apoptoz Tunel testi ile araştırıldı. Hücre hasarını mikroskop altında değerlendirmek için histopatolojik bir skala (Malinowsky skoru) kullanıldı. Ayrıca çalışmamızda kullandığımız ratların fiziksel testleri ve nörolojik durumu skorlama esasına göre (eğik düzlem testi ve Drummond Moore testi) kaydedildi.

İnflamasyon varlığında baskılanan, antiinflamasyonda ise artış gösteren IL-10'un serumdan elde edilen verileri incelendiğinde; grup 1'de oluşan baz değerleri (sham grubunun baz değerleri oluşturduğu varsayılmaktadır) ile ilaçsız travma grupları (grup 2 ve grup 3) arasında IL-10'un beklenen düşüşü istatistiksel anlamlı fark oluşturmadığı görülmekle beraber matematiksel anlamlılık göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık olmamasının nedenleri arasında en belirgin olanı gruplarda bulunan denek sayısının yetersiz olması ve bu nedenle istatistiksel olarak nonparametrik test uygulama zorunluluğudur. Grup 1 ile ilaçlı gruplar (grup 4 ve grup 5) karşılaştırıldığında sadece 100 mg/kg hesperidin kullanılan grup 5 ile istatistiksel anlamlı fark olduğu görülmektedir. Ancak grup 1 ile 50 mg/kg hesperidinin kullanılan grup 4 arasında matematiksel anlamlılık olduğu görülmektedir. Travma grupları ile (grup 2 ve grup 3) ilaç grupları (grup 4 ve grup 5) arasında mukayese yapıldığında beklenen, antiinflamasyonun hakim olduğu ilaç gruplarında IL-10'un artmış olmasıdır. Grup 2 ile grup 5 arasında ve grup 3 ile grup 5 arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu, grup 4'ün istatistiksel anlamlı fark oluşturmadan

matematiksel fark oluşturduğu görülmektedir. Grup 4 ile grup 5 karşılaştırıldığında istatistiksel fark oluşmadığı görülmektedir. Bu durum 100 mg/kg hesperidin uygulamasının 50 mg/kg hesperidin uygulamasına IL-10 seviyelerini değiştirmesi bakımından üstün olmadığı sonucuna ulaştırmaktadır. Travma grupları ile ilaç grupları arasında sadece grup 5'in anlamlı fark oluşturması, grup 4 te bulunan 50 mg/kg hesperidin yetersiz olmasından değil denek sayısının yetersiz olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Spinal kord dokusunda bakılan IL-10, travma (grup 2 ve grup 3) gruplarında belirgin azalmış ancak sham grubu referans alındığında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmamıştır. Aynı şekilde ilaç gruplarında (grup 4 ve grup 5) belirgin olarak yükselmiş ancak sham grubuna göre anlamlı farklılık oluşturmamıştır. Travma grupları ile ilaçlı gruplar mukayese edildiğinde istatistiksel anlamlılık oluşturacak şekilde hesperidin IL-10'u artırdığı görülmüştür. 50 mg/kg hesperidin kullanılan 4. grup ile 100 mg/kg kullanılan 5. grup arasında mean değerleri bakımından fark bulunsa da istatistiksel anlam ifade etmemektedir. Bu durumda dokuda hesperidin IL-10 üzerine pozitif etkisi görülmüştür ancak bu etki doz bağımlı değildir sonucuna varılabilir.

İnflamasyon varlığında artan, antiinflamasyonda baskılanan TNF α 'nın serumdan elde edilen verileri incelendiğinde; grup 1'de oluşan baz değerleri (sham grubunun baz değerleri oluşturduğu varsayılmaktadır) ile ilaçsız travma grupları (grup 4 ve grup 5) arasında istatistiksel anlamlı fark oluşmamıştır. Travma gruplarında TNF α 'nın beklenen artışı gerçekleşmemiştir. Sadece grup 3'te matematiksel anlamlılık ifade eden artış dikkati çekmiştir. Grup 1 ile ilaç grupları arasında mukayese yapıldığında grup 5'in istatistiksel anlamlılık oluşturduğu, ancak grup 5'te beklenen antiinflamasyonun TNF α 'yı azaltması gerektiği yerde tüm gruplardan daha fazla artırdığı görülmüştür. Sham grubu ile grup 4 arasında matematiksel anlamlılık olduğu görülmektedir. Travma grupları ile ilaç grupları arasında mukayese yapıldığında grup 3 ile grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür. TNF α 'nın inflamasyonda artış gösterdiği, antiinflamasyon etkinliğinde ise azalma gösterdiği en net bu iki grup arasında görülmektedir. 100 mg/kg hesperidin verilen grup 5'te ise beklenen aksine TNF α değerleri yüksek bulunmuştur.

Spinal kord dokusunda bakılan TNF α , travma gruplarında belirgin artış göstermiş, 50 mg/kg hesperidin kullanılan 4. grupta beklenen düşüşün aksine sham grubuna göre daha fazla yükselmiştir. 100 mg/kg hesperidin kullanılan 5. grupta ise ilaç, antiinflamatuvar etkinlik göstermiş ve travma gruplarına göre istatistiksel anlamlılık oluşturacak şekilde

TNF α düşüşü gerçekleşmiştir. Bu durumda dokuda hesperidinin TNF α üzerine pozitif etkisi görülmüştür ve bu etki doz bağımlıdır sonucuna varılabilir.

Total antioksidan status (TAS) antioksidan ortamda artan (ilaç gruplarında artması beklenir), travmada ve oksidan strese azalan bir etkinlik göstermektedir. Serumdan elde edilen verilerin istatistiksel analizinde TAS düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık oluşturmadığı görülmektedir, ancak gruplar arası mean değerleri mukayese edildiğinde travma grubu olan grup 2 de TAS'ın sham grubuna göre azaldığı, ilaç gruplarında ise hem grup 4 hem de grup 5'te arttığı görülmektedir. Ayrıca grup 5'te grup 4'e oranla daha fazla artış görülmüştür. Bu da 100mg/kg hesperidinin 50mg/kg hesperidine oranla daha fazla antioksidan etkinlik gösterdiğinin kanıtıdır. Ancak tekrar belirtmek gerekirse, hesperidin etkinliği her ne kadar ortaya konulsa da bu durum istatistiksel anlamlılık oluşturmamıştır.

Spinal kord dokusunda bakılan TAS, travma grubu olan grup 2'de sham grubuna göre düşüş göstermiştir ve istatistiksel olarak anlamlıdır. Grup 3'te (travma+ SF uygulaması) ise sham grubuna göre düşüş göstermesi beklenirken daha fazla yükselmiştir. Antioksidan etkinin olduğu beklenen grup 4 ve grup 5'te TAS sham ve travma gruplarına göre belirgin yükselmiş ve istatistiksel anlam oluşturmuştur. 100 mg/kg hesperidin kullanılan grup 5, 50 mg/kg hesperidin kullanılan grup 4'ten daha fazla TAS yükselişi göstermiştir ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu durumda dokuda hesperidinin TAS üzerine pozitif etkisi görülmüştür ve bu etki doz bağımlıdır sonucuna varılabilir.

Total oksidatif stres (TOS) antioksidan ortamda azalan (ilaç gruplarında azalması beklenir), travmada ve oksidan strese artan bir etkinlik göstermektedir. Yapılan istatistiksel analizde TOS serum düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık oluşturmadığı görülmektedir, ancak gruplar arası mean değerleri mukayese edildiğinde sham grubuna göre travma grubu olan grup 3'te artma olduğu, sham grubuna göre ilaç gruplarında azalma olduğu görülmüştür. Ayrıca grup 5'te kullanılan 100 mg/kg hesperidinin grup 4'te kullanılan 50 mg/kg hesperidine göre daha fazla TOS değerlerini azalttığı görülmektedir. Serum TOS oranları incelendiğinde hesperidin etkinliği görülse de, bu ölçümler istatistiksel farklılık oluşturmamıştır.

Spinal kord dokusunda bakılan TOS, sham grubuna göre travma gruplarında (grup 2 ve grup 3) artış göstermiş, ilaç gruplarında (grup 4 ve grup 5) ise azalma göstermiştir.

TOS'un travma gruplarındaki yükselişi ve ilaç gruplarındaki düşüşü istatistiksel olarak anlamlıdır. İlaç gruplarında 100 mg/kg hesperidin uygulamasının 50 mg/kg hesperidin uygulamasına göre daha fazla TOS düşününe neden olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Bu durumda dokuda hesperidinin TOS üzerine pozitif etkisi görülmüştür ve bu etki doz bağımlıdır sonucuna varılabilir.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) antioksidan ortamda azalan (ilaç gruplarında azalması beklenir), travmada ve oksidan strete artan bir etkinlik göstermektedir. Serumdan elde edilen verilerin istatistiksel analizinde sham grubu ile travma grupları (grup 2 ve grup 3) arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür. Travma gruplarında beklenen TBARS yüksekliği sadece grup 3'te gözlenmiş, grup 2 de beklenin aksine düşüş görülmüştür. Ancak ilaç grupları ile grup 2 mukayese edildiğinde serum TBARS değerleri ilaç gruplarında istatistiksel anlamlılık oluşturacak şekilde daha düşük bulunmuştur. Antioksidan etkinliğin hakim olduğu ilaç gruplarında (grup 4 ve grup 5) ise beklenen TBARS düşüşü oluşmuş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca 100 mg/kg hesperidinin kullanıldığı grup 5'te 50 mg/kg hesperidinin kullanıldığı grup 4'e oranla daha fazla TBARS düşüşü olduğu gözlemlenmiştir ve istatistiksel olarak anlamlılık oluşturmaktadır. Sonuç olarak serum TBARS ölçümleri hesperidinin beklen antioksidan etkinliğini göstermiştir.

Spinal kord dokusunda bakılan TBARS, sham grubuna göre travma gruplarında (grup 2 ve grup 3) artış göstermiş, ilaç gruplarında (grup 4 ve grup 5) ise azalma göstermiştir. TOS'un travma gruplarındaki yükselişi ve ilaç gruplarındaki düşüşü istatistiksel olarak anlamlıdır, ancak 100 mg hesperidin kullanılan 5. grupta, 50 mg/kg hesperidin kullanılan 4. gruba göre daha fazla düşüş göstermesi beklenirken 4. grubun daha etkin biçimde TBARS'ı düşürdüğü gözlemlenmiştir. Her iki ilaç grubu travma gruplarına göre TBARS'ı istatistiksel anlamlılık oluşturacak şekilde düşürmüştür. Ancak bu etkinlik doz bağımlı değildir.

Oksidatif stres indeks (OSI) ayrı bir kit kullanılarak yapılan laboratuvar ölçümü olmayıp TOS sayısal değerinin TAS sayısal değerine bölünmesiyle bulunan bir veridir. Antioksidan ortamda azalması (ilaç gruplarında azalması beklenir), travmada ve oksidan strete artması beklenir. Sham grubu ile travma grupları (grup 2 ve grup 3) mukayese edildiğinde grup 3'te beklenen yükselişin olduğu görülmüş ancak istatistiksel anlamlı fark oluşturmamıştır. Grup 2'de ise beklenenin aksine düşüş görülmüştür. İlaç grupları (grup 4

ve grup 5) ile sham grubu mukayese edildiğinde beklenen OSI düşüşü görülmüş ancak istatistiksel anlamlılık oluşmamıştır. Travma grubu olan grup 3 ile ilaç grupları mukayese edildiğinde grup 4 ve grup 5'te istatistiksel anlamlılık oluşturan OSI düşüşü görülmüştür. Bu da hesperidinin etkinliğini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca 100 mg/kg hesperidinin kullanıldığı grup 5'te 50 mg/kg hesperidinin kullanıldığı grup 4'e oranla daha fazla OSI düşüşü olmuş, ancak istatistiksel anlamlılık oluşmamıştır. Spinal kord dokusunda bakılan OSI, sham grubuna göre travma gruplarında (grup 2 ve grup 3) artış göstermiş ve bu artış istatistiksel anlamlılık oluşturmuştur. Sham gruplarına göre ilaç gruplarında (grup 4 ve grup 5) istatistiksel anlamlılı oluşturan düşüş gözlemlenmiştir. 100 mg/kg hesperidin kullanılan 5. grupta, 50 mg/kg hesperidin kullanılan 4. gruba göre daha fazla OSI düşüşü gözlemlenmiştir. Bu durumda dokuda hesperidinin OSI üzerine pozitif etkisi görülmüştür ve bu etki doz bağımlıdır sonucuna varılabilir.

Spinal kord dokusunda bakılan OSI, sham grubuna göre travma gruplarında (grup 2 ve grup 3) artış göstermiş ve bu artış istatistiksel anlamlılık oluşturmuştur. Sham gruplarına göre ilaç gruplarında (grup 4 ve grup 5) istatistiksel anlamlılık oluşturan düşüş gözlemlenmiştir. 100 mg/kg hesperidin kullanılan 5. grupta, 50 mg/kg hesperidin kullanılan 4. gruba göre daha fazla OSI düşüşü gözlemlenmiştir. Bu durumda dokuda hesperidinin OSI üzerine pozitif etkisi görülmüştür ve bu etki doz bağımlıdır sonucuna varılabilir.

Histopatolojik değerlendirmede kullanılan Malinowsky skorlaması için spinal kord dokusu ışık mikroskopunda hemotoksilen eozin boyası ile boyandı ve hücre hasarı bakıldı. Skorlama gereği fibrozis değerlendirildi ve bunun için MTK boyası kullanıldı. Dokuda hücre hasarı yoksa 0 puan, minimalse 1 puan ve belirgin hücre hasarı/fibrozis varsa 2 puan verildi. Sham grubunda travma olmadığı için çıkacak değerler referans olarak kullanıldı. İlaç gruplarında (grup 4 ve grup 5) malinowsky skoru ortalama değerleri travma gruplarına (grup 2 ve grup 3) göre daha az olduğu görülürken, sham grubu referans alındığında tüm gruplar sham grubundan daha fazla skor ortalamasına sahip oldukları görülmüştür. Ancak gruplar kendi içlerinde istatistiksel anlamlı farklılık göstermemiştir. Tüm grupların sham grubundan daha hasarlı çıkması beklenen bir durumdur, çünkü ilaçlı gruplarda ilaç etkinliği ne kadar yüksek olursa olsun hiç hasara maruz kalmamış spinal kord dokusu kadar sağlıklı sonuçlar oluşturamazlar. Burada ilaç etkinliği adına beklenen etki, grup 4 ve grup 5 Malinowsky skor ortalamalarının, grup 2 ve grup 3 skor ortalamalarının altına

kalması şeklindedir. Hesperidinin beklenen bu pozitif etkisi çalışmamızda görülmektedir ancak istatistiksel anlamlılık oluşturmamaktadır

Apoptoz değerlendirmesi için Tunel testi kullanıldı. Hesperidin antiapoptotik özellik gösterdiği için travma gruplarında (grup 2 ve grup 3) sham grubuna göre yüksek tunel yüzdesi görülmesi beklenirken, ilaç gruplarında (grup 4 ve grup 5) travma grubuna oranla daha düşük Tunel yüzdesi beklenir, ancak ilaç gruplarına ait Tunel yüzdesi Malinowsky skorunda olduğu gibi sham grubundan daha düşük beklenemez. Çalışmamızda sham grubu ile travma grupları arasında istatistiksel anlamlı fark oluşturacak şekilde Tunel yüzdesi artmış bulunmaktadır. Aynı şekilde ilaç grupları da istatistiksel anlamlı fark olacak şekilde sham grubundan daha yüksek Tunel yüzdesine sahiptir. Travma grupları ilaç gruplarından daha yüksek Tunel yüzdesine sahipken (ilaç etkinliğini gösterir) bu fark istatistiksel anlamlılık taşımamaktadır.

Eğik düzlem testi; ratların eğik düzlem üzerinde 5 saniye kadar kalabildikleri en yüksek açı derecesi olarak kaydedildiği, deney öncesi(1. gün) ve deney sonrası (7. gün) uyguladığımız bir testtir. Bu testin amacı 1. gün ve 7. gün elde edilen verileri grup içi ve gruplar arası karşılaştırmaktır. Çalışmamızda gruplarda 1. gün ve 7. gün elde edilen veriler grup içinde karşılaştırıldığında 2, 3, 4. gruplarda istatistiksel yönden anlamlı farklılık görülmüştür. Grup 1' de hiçbir fark oluşmaması iki test arasında deneklere hiçbir işlem uygulanmamasından kaynaklanmaktadır. Grup 5'te 1. ve 7. gün yapılan deney sonuçları birbirine yakın olmakla birlikte farkın istatistiksel anlamlılık oluşturmamasını, yüksek dozda ilaç etkinliğinin testi olumlu etkilediği şeklinde yorumlayabiliriz. Bu durumda testin doz bağımlı olduğunu söyleyebiliriz. Gruplar arası karşılaştırmada sham grubu ile travma grupları arasında, travma grupları ile ilaç grupları arasında istatistiksel anlamlı farklılık oluşmuştur. Bu farklılık travma gruplarında deneklerin 7. günde uygulanan eğik düzlem testinde daha az derecelerde düzlemde kayması, ilaçlı gruplarda ise daha yüksek derecelerde düzlemde kayması sonucunda oluşmuştur. Sham grubu ile ilaçlı gruplar arasında anlamlı fark bulunmaması ilaç etkinliğinin oluştuğunu göstermektedir.

Drummond Moore testi; ratların gözleme dayanan nörolojik muayenesidir. Skorumla yöntemi ile nörolojik iyilik halinden (4 puan) plejiye kadar (0 puan) olan kas gücü değerlendirmesi yapılır. Deney öncesi(1. gün) ve deney sonrası (7. gün) uyguladığımız bir testtir. Bu testin amacı 1. gün ve 7. gün elde edilen verileri grup içi ve

gruplar arası karşılaştırmaktır. Çalışmamızda gruplarda 1. gün ve 7. gün elde edilen veriler grup içinde karşılaştırıldığında 2, 3, 4, 5. gruplarda istatistiksel yönden anlamlı farklılık görülmüştür. Grup 1' de hiçbir fark oluşmaması iki test arasında deneklere hiçbir işlem uygulanmamasından kaynaklanmaktadır. Gruplar arası karşılaştırmada 7. gün uygulanan testin sonuçları göz önünde bulundurulmuş, oluşan farklılıklar gruplar arası karşılaştırılmıştır. Sham grubu ile travma grupları (grup 2 ve grup 3) arasında travma grupları ile ilaç grupları (grup 4 ve grup 5) arasında anlamlı farklılık oluşmuştur. Bu istatistiksel farklılık ilaç etkinliğinin travma grupları baz alındığında anlamlı olarak nörolojik iyileşmeye katkı sağladığı konusunda kanıtlar oluşturmaktadır. Sham grubu ile ilaç grupları arasında fark olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık oluşturmaması ilaç etkinliğini gösteren bir başka bulgudur.

Hesperidinin antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik, antineoplastik özelliklerinden faydalanılarak deney hayvanları üzerinde çeşitli modeller uygulanmıştır. 2018 yılında Gao G. ve ark. tarafından yapılan rat osteoartrit çalışmasında hesperidinin dokuda ve kanda inflamasyonu baskılayarak TNF α seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Gao ve ark 2018).

2019 yılında yapılan başka bir çalışmada Heo SD. ve ark. hesperidinin spinal kord dokusunda proinflamatuvar stokin üretimini baskılayarak TNF α düzeylerini azalttığını göstermişlerdir (Heo ve ark 2019).

Maneesai ve ark. hipertansif ratlarda kardiyak fibrozis ile sonuçlanan remodelling oluşumunu göstermiş ve hesperidin uygulamasıyla antioksidan ve antiinflamatuvar (TNF α baskılanması) özelliğinden yararlanarak kardiyak fibrozisi azalttığını göstermiştir (Maneesai ve ark 2018).

Jain M. ve ark. ratlarda steril enjeksiyonla cilt altı hava kesesi oluşturarak nonspesifik inflamasyon oluşturmuşlar ve hesperidin ile indometazinin antiinflamatuvar etkilerini karşılaştırmıştır. Hesperidinin etkin bir antiinflamatuvar olan indometazine oranla benzer TNF α düşüşü sağladığı gösterilmiştir (Jain ve ark 2011).

Nasab MK. ve ark. farelerde uyguladıkları travmatik beyin hasarına sekonder gelişen depresyon modelinde hesperidinin nöroprotektif etkisini araştırmışlar ve hesperidin uyguladıkları gruplarda inflamatuvar stokinlerin (TNF α , İL-1 β) azaldığını

gözlemlemişlerdir. Hesperidin uygulanan grupta nöroprotektif etkiyi gösteren brain derived neurotrophic factor (BDNF) seviyelerinin fare hipokampusunda travma gruplarına göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Nasab ve ark 2018).

Oğuzturk H. ve ark. ratlarda sisplatinin kardiyotoksik etkisini önlemek için hesperidin uygulamışlar ve sisplatin grubunda kardiyak dokulardaki TBARS (oksidan strese azalması beklenir) seviyelerini anlamlı derecede yüksek, glutasyon, süperoksit dismutaz ve katalaz seviyelerini anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Diğer taraftan, sisplatin + hesperidin grubundaki glutasyon ve supeksid dismutaz düzeylerini kontrol grubuna benzer bulmuşlardır. Çalışma sonucunda hesperidin kardiyotoksiteye karşı koruyucu etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Oguzturk ve ark 2016).

Tamilselvam K. ve ark. nöroblastom hücre kültürlerinde rotenon ile indüklenmiş parkinson doku örnekleri oluşturmuş ve hesperidin doku üzerine etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak hesperidin TBARS, reaktif oksijen species-ROS, glutasyon peroksidaz düzeylerini azaltmış ve antiapoptotik etki göstererek ve mitokondri regülasyonu sağlayarak hücre kültürlerinde rotenona karşı koruyucu olduğunu göstermiştir (Tamilselvam ve ark 2016).

Dokumacioglu E. ve ark. yaptığı çalışmada streptozosin ile diyabetik hale getirilen ratlarda hesperidin uygulaması beklenenin aksine TNF α düzeylerini artırmış, diyabetli ratlarda sham gruplarına oranla daha düşük TNF α düzeyleri görülmüştür. Oksidan parametreler bakıldığında (glutasyon ve malondialdehit) diyabetli ratlara oranla hesperidin grubunda antioksidan etkinin ortaya çıktığı görülmüştür (Dokumacioglu ve ark 2018).

Maekawa S. ve ark. yaptığı çalışmada N-metil D-aspartat kaynaklı retina hasarında hesperidin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi ile hasarın düzelmesine katkıda bulunduğunu gösterilmişlerdir (Maekawa ve ark 2017)

Tirkey N. ve ark. tarafından ratlar üzerinde yapılan çalışmada karbon tetrakloridin (CCl₄) oksidan stres üzerinden hepatotoksik ve nefrotoksik etkisi gösterilmiş, 200mg/kg hesperidin oral gavaj uygulamasının bu etkiyi ortadan kaldırdığı, TBARS seviyesini azalttığı vurgulanmıştır. Çalışmanın beklenmeyen tarafı hesperidin diğer oksidan/antioksidan moleküllerinde (glutasyon, süperoksit dismutaz, katalaz) anlamlı bir değişiklik sağlamamış olmasıdır (Tirkey ve ark 2005).

Tsai YF. ve ark. tarafından yapılan çalışmada total diz protezi geçiren 11 hastadan elde edilen kondrosit kültürü üzerinde hesperidinin antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği araştırılmıştır. Doz bağımlı çalışmada etkin dozun 5-10 µM olduğu tespit edilmiştir. 50 ve 100 µM gibi yüksek dozlarda hücre toksisitesi oluşmuştur. Sonuç olarak hesperidin COX-2, TNF α, IL-1β gibi inflamatuvar stokinlere ait mRNA düzeylerini azaltmış, antiinflamatuvar bir stokin olan IL-10'a ait mRNA düzeyini artırmıştır (Tsai ve ark 2019).

Yıldız F. ve ark. yaptığı çalışmaya göre işlem öncesi 80 mg/kg hesperidin verilen ratlarda karaciğer iskemi reperfüzyon hasarının değerlendirmesinde, hesperidin ile tedavi edilen grupta TOS, OSI ve myeloperoksidaz düzeyleri daha düşük bulunmuştur. TAS düzeyi ise tedavi grubunda iskemi reperfüzyon grubuna oranla daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak hesperidinin antioksidan özelliği bir kez daha vurgulanmıştır (Yıldız ve ark 2015).

Biz de bu çalışmamızda spinal kord travma modelinde hesperidinin sekonder hasar üzerine etkisini araştırdık. Doku TNF α düzeyleri ile serum/doku IL-10 düzeyleri incelendiğinde antiinflamatuvar etkinliği gözlemlendi. Serum ve dokuda TAS, TOS, TBARS, OSI düzeyleri incelendiğinde hesperidinin antioksidan yönüyle etkin olduğu görüldü, ancak serum TAS ve TOS istatistiksel anlamlılık ifade etmemektedir. Histopatolojik incelemede Malinowsky skorunda hücre hasarını önleyici özelliğini, Tunel testi ile de antiapoptotik özelliğini destekleyici veriler elde ettik, ancak Malinowsky skoru istatistiksel anlamlılık ifade etmemektedir. Nörolojik değerlendirme için uyguladığımız eğik düzlem testi ve Drummond Moor testi nörolojik hasarı önlemede hesperidinin etkinliği açısından olumlu veriler göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda spinal kord travma modelinde hesperidinin sekonder hasar üzerine etkisini 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. Doku TNF α düzeyleri ile serum/doku IL-10 düzeyleri incelendiğinde hesperidinin antiinflamatuvar etkinliği ortaya çıkmaktadır. Serum TNF α düzeyleri ise antiinflamatuvar süreçte çelişkili bulunmuştur.
2. Hem serumda hem de dokuda bakılan TAS, TOS, TBARS, OSI düzeyleri incelendiğinde hesperidinin antioksidan yönüyle etkin olduğu görölmektedir, ancak Serum TAS ve TOS istatistiksel anlamlılık göstermemektedir.
3. Histopatolojik incelemede Malinowsky skoruna bakıldığında hesperidin, spinal kord dokusunda hücre hasarını önlemede etkin rol oynadığı düşünölmüştür ancak istatistiksel anlamlılık taşımamaktadır.
4. Tunel testi tüm gruplarda hesperidin lehine anlamlı farklılık oluşturmaktadır ve hesperidinin antiapoptotik özelliğini ortaya koymaktadır.
5. Ratların nörolojik durumunu değerlendirdiğimiz eğik düzlem testi ve Drummond Moore testi hesperidinin nörolojik hasarı önlemede etkin olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler ışığında, biyokimyasal, histopatolojik nörolojik muayene sonuçlarını göz önüne aldığımızda, hesperidinin nöroprotektif etkisi olduğunu ancak klinik kullanım için daha fazla çalışmaya gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKÇA

1. Abe Y, Yamamoto T, Sugiyama Y, et al. Apoptotic cells associated with Wallerian degeneration after experimental spinal cord injury: a possible mechanism of oligodendroglial death. *J Neurotrauma* 1999;16:945–52.
2. Agrawal SK, Fehlings MG. The effect of the sodium channel blocker QX-314 on recovery after acute spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1997;14:81–8.
3. Anderson DK, Hall ED. Pathophysiology of spinal cord trauma. *Ann Emerg Med* 1989;22:987–92.
4. Arnold PM, Citron BA, Ameenuddin S, et al. Caspase-3 inhibition is neuroprotective after spinal cord injury [abstract]. *J Neurochem* 2000;74:S73B.
5. Barthe GA, Jourdan PS, McIntosh CA, Mansell RL. Radioimmunoassay for the quantitative determination of hesperidin and analysis of its distribution in *Citrus sinensis*. *Phytochemistry* 1988; 27(1): 249–54.
6. Beckman JS. Peroxynitrite versus hydroxyl radical: the role of nitric oxide in superoxide-dependent cerebral injury. *Ann NY Acad Sci* 1994;738:69–75.
7. Benzel EC. Management of acute spinal cord injury. In: Wilkins RH, Rengachary SS, eds. *Neurosurgery*. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1996:2861–6.
8. Bethea JR, Castro M, Keane RW, et al. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappaB activation. *J Neurosci* 1998; 18:3251–60.
9. Bethea JR, Nagashima H, Acosta MC, et al. Systemically administered interleukin-10 reduces tumor necrosis factor-alpha production and significantly improves functional recovery following traumatic spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* 1999;16: 851–63.
10. Bhargava P, Verma VK, Malik S, Khan SI, Bhatia J, Arya DS. Hesperidin regresses cardiachypertrophy by virtue of PPAR- γ agonistic, anti-inflammatory, antiapoptotic, and antioxidant properties. *J Biochem Mol Toxicol*. 2018;e22283. doi:10.1002/jbt.22283
11. Blight AR, Young W. Central axons in injured cat spinal cord recover electrophysiological function following remyelination by Schwann cells.
12. Boonpawa R, Spenklink A, Punt A, Rietjens I. Physiologically based kinetic modeling of hesperidin metabolism and its use to predict in vivo effective doses in humans. *Molecular Nutrition & Food Research* 2017.

13. Bracken MB, Freeman DH, Hellenbrand K. Incidence of acute traumatic spinal cord injury in the United States, 1970–1977. *Am J Epidemiol* 1981;113:615–22.
14. Brewer KL, Bethea JR, Yeziarski RP. Neuroprotective effects of interleukin-10 following excitotoxic spinal cord injury. *Exp Neurol* 1999;159:484–93.
15. Budd SL, Tenneti L, Lishnak T, et al. Mitochondrial and extramitochondrial apoptotic signaling pathways in cerebrocortical neurons. *Proc Natl Acad Sci U SA* 2000;97:6161–6.
16. Büyükkınacı S, Ofluoğlu E, Toplamaoğlu H. Spinal Kord Tarihi. *Sinir Sistemi Cerrahisi Derg* 1: 67-72, 2008
17. Celik E, Oguzturk H, Sahin N, Turtay M G, Oguz F, Ciftci O. Protective effects of hesperidin in experimental testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *Arch Med Sci* 5, October / 2016
18. Cheung JY, Bonventre JV, Malis CD, et al. Calcium and ischemic injury. *N Engl J Med* 1986;314:1670–6.
19. Choi DW. Ion dependence of glutamate neurotoxicity. *J Neurosci* 1999;7:369–79.
20. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi A, et al. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/ reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001;53:135–59.
21. Dohrmann GJ. Experimental spinal cord trauma. *Arc Neurol*, 27: 468–473, 1972.
22. Dokumacioglu E, Iskender H, Sen TM, Ince I, Dokumacioglu A, Kanbay Y, Erbas E, Saral S. The Effects of Hesperidin and Quercetin on Serum Tumor Necrosis Factor -A lpha and I Model. *Phcog Mag* 2018;14:167-73.
23. Economic Impact of SCI published in the journal *Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation*, Volume 16, Number 4, in 2011.
24. Eldadah BA, Faden AI. Caspase pathways, neuronal apoptosis, and CNS injury. *J Neurotrauma* 2000;17:811–29.
25. Erel Ö. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* 2005, 1103–1111
26. Ersoy M, Kalkan A İ. Medulla Spinalis Anatomisi ve Yolları, *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 1996, 16
27. Erzurumlu R, Şenoğlu G, Ulupınar E. *Nöroanatomî. Güneş Tıp Kitabevleri. Ankara;* 2019. p.14-18.

28. Erzurumlu R, Şenoğlu G, Ulupınar E. Nöroanatomi. Güneş Tıp Kitabevleri. Ankara; 2019. p.198
29. Fabian RH, Dewitt DS, Kent TA. In vivo detection of superoxide anion production by the brain using a cytochrome c electrode. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995;15:242–7
30. Faden AI, Chan PH, Longar S. Alterations in lipid metabolism, Na, K-ATPase activity and tissue water content of spinal cord after experimental traumatic injury. *J Neurochem* 1987;48:1809–16.
31. Faden AI, Lemke M, Simon RP, et al. N-methyl-D-aspartate antagonist MK801 improves outcome after traumatic spinal cord injury in rats: behavioral, anatomic, and neurochemical studies. *J Neurotrauma* 1988;5:33–45.
32. Faden AI. Neuropeptides and central nervous system injury. *Arch Neurol* 1986;43:501–4.
33. Farooque M, Olsson Y, Hillered L. Pretreatment with α -phenyl- α -tert-butyl-nitrone (PBN) improves energy metabolism after spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* 1997;14:469–76.
34. Fehlings MG, Tator CH. An evidence-based review of decompressive surgery in acute spinal cord injury: rationale, indications, and timing based on experimental and clinical studies. *J Neurosurg.* 1999 Jul;91(1 Suppl):1-11.
35. Fiskum G. Mitochondrial participation in ischemic and traumatic neural cell death. *J Neurotrauma* 2000;17:843–55.
36. Gao G, Ding H, Zhuang C, Fan W. Effects of Hesperidin on H₂O₂-Treated Chondrocytes and Cartilage in a Rat Osteoarthritis Model. *Medical Science Monitor* 2018, 24: 9177-9186
37. Gasic GP, Hollmann M. Molecular neurobiology of glutamate receptors. *Annu Rev Physiol* 1992;54:507–36.
38. Gezici A R, Kilic G, Firat T, Cancan S E, Kukner A, Ozkan N, Dagistan Y. The therapeutic effects of cyclosporin-A on experimental spinal cord injury. *Biomedical Research* 2017; 28 (8): 3755-3762
39. Ghirnikar RS, Lee YL, Eng LF. Chemokine antagonist infusion attenuates cellular infiltration following spinal cord contusion injury in rat. *J Neurosci Res* 2000;59:63–73.
40. Guha A, Tator CH. Acute cardiovascular effects of experimental spinal cord injury. *J Trauma* 1988;28:481–90.

41. Hall ED, Wolf DL. A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanisms of posttraumatic spinal cord ischemia. *J Neurosurg* 1986;64:951–61.
42. Hamada Y, Ikata T, Katoh S, et al. Involvement of an intercellular adhesion molecule 1-dependent pathway in the pathogenesis of secondary changes after spinal cord injury in rats. *J Neurochem* 1996;66:1525–31.
43. Heo SD, Kim J, Choi Y, Ekanayake P, Ahn M, Shin T. Hesperidin improves motor disability in rat spinal cord injury through anti-inflammatory and antioxidant mechanism via Nrf-2/HO-1 pathway. *Neuroscience Letters* 2019,DOI: 10.1016/j.neulet.2019.134619
44. <https://www.nscisc.uab.edu/Public/Facts%20and%20Figures%20-%202018.pdf>
45. Hughes J T. The Edwin Smith Surgical Papyrus: An analysis of the first case reports of spinal cord injuries. *Paraplegia* 26 (1988) 71-82
46. Jain M, Parmar HS. Evaluation of antioxidative and anti-inflammatory potential of hesperidin and naringin on the rat air pouch model of inflammation. *Springer* 2011, 60:483–491 DOI 10.1007/s00011-010-0295-0
47. Joseph JA, Bartus RT, Clody D, et al. Psychomotor performance in senescent rodent: reduction of deficits via striatal dopamine receptor upregulation. *Neurobiol Aging*. 1983;4:313–319.
48. Jovanovic SV, Steenken S, Tosic M, Marjanovic B, Simic MG. Flavonoids as antioxidants. *J Am Chem Soc* 1994; 116(11): 4846-51.
49. Kahraman A, Serteser M, Koken T. Flavunoidler. *Kocatepe TIP Dergisi* (2002), 3, 01-08 *The Medical Journal of Kocatepe* 2002
50. Kaufmann WE, Worley PF, Pegg J, et al. COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93: 2317–21.
51. Kim SY, Kim MS, Lee MK, Kim JS, Yi HK, Nam SY, Lee DY, Hwang PH. PPAR α induces growth inhibition and apoptosis through upregulation of insulin-like growth factor-binding protein-3 in gastric cancer cells. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (2015) 48(3): 226-233
52. Koehler P J. Isaïc Van Deen and Benedikt Stilling: a controversy on the function of the spinal cord in the 19th century. / *Hist Neurosd* (1992): 1,189-200
53. Koyanagi I, Tator CH, Lea PJ. Silicone rubber microangiography of acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1993;32:260–8.

54. Kunti V, Brbori J, Holclajtner-Antunov I, Uskokovic-Markovic S. Evaluating the bioactive effects of flavonoid hesperidin – A new literature data survey. *Vojnosanit Pregl* 2014; 71(1): 60–65.
55. Landau G, Kodali KK, Malhotra JD, Kaufman RJ. Detection of Oxidative Damage in Response to Protein Misfolding in the Endoplasmic Reticulum. *Methods in Enzymology* 2013, Volume 526 Doi: 10.1016/B978-0-12-405883-5.00014-4
56. Lapchak PA, Araujo DM, Song D, et al. Neuroprotection by the selective cyclooxygenase-2 inhibitor SC-236 results in improvements in behavioral deficits induced by reversible spinal cord ischemia. *Stroke* 2001;32:1220–5.
57. Leuzzi U, Caristi C, Panzera V, Licandro G. Flavonoids in pigmented orange juice and second-pressure extracts. *J Agric Food Chem* 2000; 48(11): 5501-6.
58. Lewen A, Matz P, Chan PH. Free radical pathways in CNS injury. *J Neurotrauma* 2000;17:871–90.
59. Li GL, Farooque M, Holtz A, et al. Apoptosis of oligodendrocytes occurs for long distances away from the primary injury after compression trauma to rat spinal cord. *Acta Neuropathol (Berl)* 1999; 98:473–80.
60. 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;99:333–42.
61. Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N Engl J Med* 1994;330: 613–22.
62. Maekawa S, Sato K, Fujita K, Daigaku R, Tawarayama H, Murayama N, Moritoh S, Yabana T, Shiga Y, Omodaka K, Maruyama K, Koji M, Nishiguchi KM, Nakazawa T. The neuroprotective effect of hesperidin in NMDA-induced retinal injury acts by suppressing oxidative stress and excessive calpain activation. *Scientific Reports* 2017, 7: 6885 DOI:10.1038/s41598-017-06969-4
63. Malesev D, Radovic Z, Kuntic V, Kosanic M. Spectrophotometric determination of hesperidin by hesperidin complex in water-methanol solution. *Anal Letters* 1997; 30(5): 917-26.
64. Malinovsky, J.M., et al., Ketamine and midazolam neurotoxicity in the rabbit. *Anesthesiology*, 1991. 75(1): p. 91-7
65. Manach C, Morand C, Gil-Izquierdo A, Bouteloup-Demange C, Rémésy C. Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of orange juice. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57(2): 235-42.

66. Maneesai P, Bunbupha S, Potue P, Berkban T, Kukongviriyapan U, Kukongviriyapan V, Prachaney P, Pakdeechote P. Hesperidin Prevents Nitric Oxide Deficiency-Induced Cardiovascular Remodeling in Rats via Suppressing TGF-1 and MMPs Protein Expression. *Nutrients* 2018, 10, 1549; doi:10.3390/nu10101549
67. McIntosh TK, Juhler M, Wieloch T. Novel pharmacologic strategies in the treatment of experimental traumatic brain injury: 1998. *J Neurotrauma* 1998;15:731–69.
68. Moccetti I, Wrathall JR. Neurotrophic factors in central nervous system trauma. *J Neurotrauma* 1995;12:853–70.
69. Nasab MK, Shokouhi G, Ghorbanhaghjo A, Abbasi MM, Salari AA. Hesperidin attenuates depression-related symptoms in mice with mild traumatic brain injury. *Life Sciences* 2018, doi:10.1016/j.lfs.2018.10.040
70. Netter FH: *Beşin ve Omuriliğın Anatomisi*, The Netter Collection of Medical Illustration Nervous System, volume 1: Part 1: Anatomy and physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders, 2007, pp: 36-66
71. Oguzturk H, Ciftci O, Cetin A, Kaya K, Disli OM, Turtay MG, Gurbuz S, Basak N. Beneficial effects of hesperidin following cisplatin-induced neurotoxicity. *Journal of Clinical Practice* 2016, DOI: 10.4103/1119-3077.173707
72. Olney JW. Excitatory Transmitter Neurotoxicity. *Neurobiology of Aging*, Vol. 15, No. 2, pp. 259-260, 1994
73. Olsson Y, Sharma HS, Nyberg F, et al. The opioid receptor antagonist naloxone influences the pathophysiology of spinal cord injury. *Prog Brain Res* 1995;104:381–99.
74. Özer F, Arslantaş A, Dalbayrak S. *Temel Spinal Cerrahi Cilt 1*. İntertip yayınevi. Ankara; 2016. p. 1-5.
75. Pang D, Wilberger JE Jr. Spinal cord injury without radiographic abnormalities in children. *J Neurosurg* 1982;57:114–29.
76. Pinchi E, Frati A, Cantatore S, D’Errico S, La Russa R, Maiese A, Palmieri M, Pesce A, Viola RV, Frati P, Fineschi V. Acute Spinal Cord Injury: A Systematic Review Investigating miRNA Families Involved. *International Journal of molecular sciences* 2019, 20, 1841, doi:10.3390/ijms20081841
77. Popovich PG, Stokes BT, Whitacre CC. Concept of autoimmunity following spinal cord injury: possible roles for T lymphocytes in the traumatized central nervous system. *J Neurosci Res* 1996;45: 349–63.

78. 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, pp. 254–264
79. Resnick DK, Graham SH, Dixon CE, et al. Role of cyclooxygenase 2 in acute spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1998;15:1005–13.
80. Rhoney DH, Luer MS, Hughes M, et al. New pharmacologic approaches to acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy* 1996;16: 382–92.
81. Satake K, Matsuyama Y, Kamiya M, et al. Nitric oxide via macrophage iNOS induces apoptosis following traumatic spinal cord injury. *Brain Res Mol Brain Res* 2000;85:114–22.
82. Schanne FAX, Kane AB, Young EE, et al. Calcium dependence of toxic cell death: a final common pathway. *Science* 1979;206: 700–2.
83. Schwab JM, Brechtel K, Nguyen TD, et al. Persistent accumulation of cyclooxygenase-1 (COX-1) expressing microglia/macrophages and upregulation by endothelium following spinal cord injury. *J Neuroimmunol* 2000;111:122–30.
84. Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996;76:319–70.
85. Sekhon HS, Fehlings MG, Epidemiology, Demographics, and Pathophysiology of Acute Spinal Cord Injury. *Spine* volume 26, Number 24S, pp S2–S12.
86. Shields DC, Schaefer KE, Hogan EL, et al. Calpain activity and expression increased in activated glial and inflammatory cells in penumbra of spinal cord injury lesion. *J Neurosci Res* 2000;61: 146–50.
87. Shuman SL, Bresnahan JC, Beattie MS. Apoptosis of microglia and oligodendrocytes after spinal cord contusion in rats. *J Neurosci Res* 1997;50:798–808.
88. Springer JE, Azbill RD, Knapp PE. Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in traumatic spinal cord injury. *Nat Med* 1999; 5:943–6.
89. Suner A, Polat M, Sezen H, Savik E, Kaya H, Koroğlu S. Uzun süreli sigara kullanımının oksidatif stres üzerine etkisi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2014, Cilt 11. Sayı 2
90. Suwanwela C, Alexander E Jr, Davis CH Jr. Prognosis in spinal cord injury with special reference to patients with motor paralysis and sensory preservation. *J Neurosurg* 1962;19:220–7.

91. Tamilselvam K, Braidy N, Manivasagam T, Essa MM, Prasad NR, Karthikeyan S, Thenmozhi AJ, Selvaraju S, Guillemin GJ. Neuroprotective Effects of Hesperidin, a Plant Flavanone, on Rotenone-Induced Oxidative Stress and Apoptosis in a Cellular Model for Parkinson's Disease. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2013, Article ID 102741, 11 pages Doi:10.1155/2013/102741
92. Tirkey N, Pilkhwai S, Kuhad A, Chopra K. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. BMC Pharmacology 2005, 5:2 doi:10.1186/1471-2210-5-2
93. Tsai YF, Chen YR, Chen JP, Tang Y, Yang KC. Effect of hesperidin on anti-inflammation and cellular antioxidant capacity in hydrogen peroxide-stimulated human articular chondrocytes. Process Biochemistry 2019, 175–184 Doi: 10.1016/j.procbio.2019.07.014
94. 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;14:53–61.
95. Wolman L. The disturbances of circulation in traumatic paraplegia in acute and late stages: a pathological study. Paraplegia 1965;2: 213–26.
96. Yildiz F, Coban S, Terzi A, Aksoy N, Bitiren M. Protective Effect of Micronized Purified Flavonoid Fraction on Ischemia/Reperfusion Injury of Rat Liver. Transplantation Proceedings 2015, 47, 1507e1510 Doi: 10.1016/j.transproceed.2015.04.062
97. Youdim K A, Dobbie M S, Kuhnle G, Proteggente A R, Abbot N J, Evans C R. Interaction between flavonoids and the blood–brain barrier: in vitro studies. Journal of Neurochemistry, 2003, 85, 180–192
98. Youdim K A, Joseph J A. A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: a multiplicity of effects. Free Radic. Biol. Med. 2001; 30, 583– 594.
99. 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. Clin Anat 1995;8(5):347-51.