

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

RATLARIN DENEYSEL POSTTRAVMATİK MEDULLA SPİNALİS
HASARINDA
İSOLİQUİRİTİGENİN'İN NÖRONAL REJENERASYON ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

DR FATİH KARATAŞ

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2025

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

RATLARIN DENEYSEL POSTTRAVMATİK MEDULLA SPİNALİS
HASARINDA
İSOLİQUİRİTİGENİN'İN NÖRONAL REJENERASYON ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

DR FATİH KARATAŞ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN: PROF. DR. MEHMET FATİH ERDİ

KONYA, 2025

TEŞEKKÜR

Beyin ve Sinir Cerrahisi ihtisas eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, anabilim dalı başkanımız, kıymetli hocam Prof. Dr. Ahmet Önder Güney'e saygı, hürmet ve teşekkürlerimi arz ederim.

Her durumda sabır, sevgi ve hoşgörü ile bana destek olan değerli tez danışmanlarım, kıymetli hocalarım Prof. Dr. Mehmet Fatih Erdi ve Prof. Dr. Fatih Keskin'e, eğitimim boyunca destek, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Yalçın Kocaoğullar'a, Doç. Dr. Bülent Kaya'ya, Doç. Dr. Densel Araç'a, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Kenan'a, Dr. Öğr. Üyesi Mahmut Sertdemir'e saygı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Bu çalışmamızın histopatolojik değerlendirme kısmındaki katkı ve emeklerinden dolayı Prof. Dr. Gökhan Cüce'ye, biyokimyasal inceleme kısmındaki katkı ve emeklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Kılınç'a, istatistiksel analiz kısmındaki katkı ve emeklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Taha Tavacı'ya teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince, yoğun çalışma ortamında ve zorlu eğitim sürecimizde birlikte yol aldığımız değerli asistan arkadaşlarıma, Beyin Cerrahisi servis, yoğun bakım, poliklinik ve ameliyathane hemşire ve personellerine, çalışma fırsatı bulduğum tüm ekip arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde emeği geçen, beni yetiştiren, her durumda sevgi ve şefkatle beni destekleyen sevgili annem Ummuhani Karataş'a, sevgili babam Zeyit Karataş'a ve bütün aileme hürmet, saygı ve minnetlerimi sunarım. Aynı zamanda bana manevi destekleriyle güç veren, varlıklarıyla huzur ve güven hissettiren sevgili kayınvalidem Ayşe Çüven Hanım'a ve kayınpederim Ayhan Çüven Bey'e de içten teşekkürlerimi sunarım.

Uzun ve yorucu eğitim sürecim boyunca gösterdiği sabır, hoşgörü ve anlayışla benden desteğini esirgemeyen sevgili eşim Aysun Karataş'a sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Ve dünyalar tatlısı canım oğlum Arif Tuna'ya en içten sevgilerimle...

Ağustos 2025

Dr. Fatih KARATAŞ

ÖZET

RATLARIN DENEYSEL POSTTRAVMATİK MEDULLA SPİNALİS HASARINDA İSOLİQUİRİTİGENİN'İN NÖRONAL REJENERASYON ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

DR FATİH KARATAŞ

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2025

Amaç: Bu çalışmanın amacı, deneysel travmatik medulla spinalis hasarı modelinde (TMSH), Isoliquiritigenin'in (ISL) nöroprotektif etkilerini; oksidatif stres belirteçleri, proinflamatuvar sitokin düzeyleri, nörotrofik faktör ekspresyonu, histopatolojik değişiklikler, apoptoz ve nörolojik fonksiyonel iyileşme parametreleri üzerinden çok yönlü olarak değerlendirmektir.

Yöntem: 45 adet wistar albino cinsi rat her grupta 9 adet olmak üzere 5 gruba ayrılarak randomize edildi. TMSH, Modifiye Allen Ağırlık Düşürme Metodu ile gerçekleştirildi.

Grup 1 (İntakt Kontrol Grubu): Bu gruptaki ratlara herhangi bir cerrahi veya travmatik işlem uygulanmadı. Yedinci gün, kan ve T7–T9 arası medulla spinalis dokuları alınarak analiz için laboratuvara gönderildi.

Grup 2 (Sham Grubu): Birinci gün sadece laminektomi uygulandı; spinal travma oluşturulmadı. Yedinci gün, kan ve doku örnekleri alındı.

Grup 3 (Travma + DMSO Grubu): Birinci gün laminektomi sonrası spinal travma oluşturuldu. Travmayı takiben 30. dakikada, 12. saatte ve 48. saatte olmak üzere üç doz halinde intraperitoneal yolla 0,25 mL (1 mL/kg) DMSO uygulandı. Yedinci gün kan ve doku örnekleri alındı.

Grup 4 (Travma + Düşük Doz ISL Grubu): Birinci gün laminektomi sonrası spinal travma oluşturuldu. Travmayı takiben 30. dakikada, 12. saatte ve 48. saatte olmak üzere üç doz halinde intraperitoneal yolla 20 mg/kg dozunda ISL verildi. Yedinci gün kan ve doku örnekleri alındı.

Grup 5 (Travma + Yüksek Doz ISL Grubu): Birinci gün laminektomi sonrası spinal travma oluşturuldu. Travmayı takiben 30. dakikada, 12. saatte ve 48. saatte olmak üzere üç doz halinde intraperitoneal yolla 40 mg/kg dozunda ISL verildi. Yedinci gün kan ve doku örnekleri alındı.

Deneyin 0.,1.,3. ve 7. günlerinde ratların motor muayeneleri için Basso Beattie and Bresnahan (BBB) ve Modifiye Tarlov Skalası testleri uygulandı. Ratlardan elde edilen hasarlı medulla spinalis dokusu ve kan serum örneklerinde TNF-alfa (tümör nekroz faktör alfa), TGF-Beta 1 (transforming growth factor beta), BDNF (brain derived neurotrophic factor), NF-Kb (nükleer faktör kabba B) seviyeleri enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle ve TAS (total antioksidan status), TOS (total oksidatif stres) spektrofotometrik yöntemle Tıbbi Biyokimya AD araştırma laboratuvarında çalışılmıştır.

Ratlardan elde edilen spinal kord kesitleri 2 gün %10'luk formaldehitte tespit edildi. NEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D laboratuvarında rutin histolojik takip sonrası parafine gömüldü ve 4 mikronluk kesitler alındı. Bu spinal kord kesitleri hematoksilin eozin boyası kullanılarak histoloji laboratuvarında ışık mikroskobu altında incelendi. Spinal kordun tüm örneklerinde, histopatolojik değişikliklerin sınıflandırılmasında 0 ve 3 arasında değişen skorlama sistemi kullanıldı. 5 farklı parametre (hemoraji, ödem, aksonal dejenerasyon, vakuolizasyon ve Nöron nekrozu) değerlendirildi ve skorlandı.

Apoptotik hücreler, bir ApopTag In Situ Apoptoz Tespit Kiti (Millipore) kullanılarak etiketlendi. DNA fragmanları terminal deoksinükleotidil transferazın etkisiyle modifiye edildi. Tüm prosedürler üreticinin talimatlarını izledi. TUNEL pozitif ve toplam hücreler gri maddede 4 mikronluk kesitlerde 20'lik objektifde sayıldı ve yüzdeleri alındı.

TUNEL pozitif hücre sayısı ve histopatolojik skor TUKEY testi ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak karşılaştırıldı.

Bulgular: ISL tedavisinin biyokimyasal, histopatolojik ve fonksiyonel etkileri değerlendirilmiştir. Travma sonrası serum ve doku düzeylerinde belirgin BDNF azalması, TGF-β1 ve TAS düşüşü, TNF-α ve TOS artışı izlenmiş; yüksek doz ISL uygulamasıyla bu parametrelerde anlamlı düzeyde iyileşme gözlenmiştir. NF-κB düzeyleri travma grubunda düşerken, ISL tedavisi bu parametreyi artırarak nöronal savunma mekanizmalarını desteklemiş, ancak serum düzeylerinde bu değişim istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Histopatolojik incelemelerde travma grubunda belirgin nöronal nekroz, ödem ve aksonal dejenerasyon saptanırken, ISL uygulanan gruplarda bu bulgular hafiflemiş; özellikle yüksek

doz ISL uygulanan grupta morfolojik koruma daha belirgin izlenmiştir. TUNEL analizi, travma sonrası artmış apoptoz düzeylerinin ISL ile anlamlı şekilde azaldığını göstermiştir. Fonksiyonel değerlendirmelerde ise, travma sonrası ciddi motor defisit geliştiği; ISL tedavisinin, özellikle 40 mg/kg dozda uygulandığında, 3. ve 7. günlerde nörolojik iyileşmeyi anlamlı düzeyde desteklediği saptanmıştır. Elde edilen bulgular, ISL'nin spinal travma sonrası oluşan sekonder hasar mekanizmalarını baskılayarak nöroprotektif ve anti-inflamatuvar etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur.

Sonuç: Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler doğrultusunda ISL, medulla spinalis hasarında antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik ve nöronal rejenerasyon etkileriyle güçlü bir nöroprotektif profil ortaya koymuştur. Bu etkiler doz bağımlı olarak artmakta ve özellikle subakut fazda belirginleşmektedir. Hem fonksiyonel hem de doku düzeyinde anlamlı iyileşme sağlayan ISL, terapötik ajan adayları olarak değerlendirilmelidir

Anahtar kelimeler: isoliquiritigenin, nöronal rejenerasyon, travma, rat, medulla spinalis

ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFECTS OF ISOLIQURITIGENIN ON NEURONAL REGENERATION IN EXPERIMENTAL POST-TRAUMATIC SPINAL CORD INJURY IN RATS

DR. FATİH KARATAŞ

MEDICAL SPECIALTY THESIS

KONYA, 2025

Objective: This study aimed to comprehensively evaluate the neuroprotective effects of isoliquiritigenin (ISL) in an experimental traumatic spinal cord injury model, based on oxidative stress markers, proinflammatory cytokine levels, neurotrophic factor expression, histopathological alterations, apoptosis, and functional neurological recovery parameters.

Methods: A total of 45 Wistar albino rats were randomly assigned into five groups (n=9 per group). Traumatic spinal cord injury was induced using the modified Allen weight-drop method.

Group 1 (Intact Control): No surgical or traumatic procedure was applied. On day 7, blood and spinal cord samples (T7–T9) were collected for analysis.

Group 2 (Sham): Only laminectomy was performed on day 1, without spinal injury. Blood and tissue samples were collected on day 7.

Group 3 (Trauma + DMSO): Following laminectomy, spinal injury was induced on day 1. Intraperitoneal DMSO (0.25 mL, 1 mL/kg) was administered at 30 minutes, 12 hours, and 48 hours post-injury. Samples were collected on day 7.

Group 4 (Trauma + Low-dose ISL): Following spinal cord injury induction on day 1, ISL was administered intraperitoneally at a dose of 20 mg/kg at 30 minutes, 12 hours, and 48 hours post-injury.

Group 5 (Trauma + High-dose ISL): Following spinal cord injury induction on day 1, ISL was administered intraperitoneally at a dose of 40 mg/kg at 30 minutes, 12 hours, and 48 hours post-injury.

Neurological motor assessments were performed on days 0, 1, 3, and 7 using the Basso, Beattie, and Bresnahan (BBB) scale and the modified Tarlov score. Biochemical analysis of serum and injured spinal cord tissue samples included TNF- α , TGF- β 1, BDNF, and NF- κ B levels via enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) via spectrophotometry at the Department of Medical Biochemistry research laboratory.

Spinal cord samples were fixed in 10% formalin for 48 hours and embedded in paraffin following standard histological procedures at the Department of Histology and Embryology. Sections (4 μ m) were stained with hematoxylin-eosin and evaluated under light microscopy. Histopathological scoring (0–3) was performed based on five parameters: hemorrhage, edema, axonal degeneration, vacuolization, and neuronal necrosis.

Apoptotic cells were identified using the ApopTag In Situ Apoptosis Detection Kit (Millipore). DNA fragmentation was labeled by terminal deoxynucleotidyl transferase, following the manufacturer's instructions. TUNEL-positive and total cells were counted in the gray matter using a 20 \times objective, and apoptotic ratios were calculated. TUNEL-positive cell counts and histopathological scores were statistically compared using one-way ANOVA with Tukey's post hoc test.

Results: The biochemical, histopathological, and functional effects of ISL treatment were evaluated. Spinal cord injury resulted in significant reductions in BDNF, TGF- β 1, and TAS levels, and increases in TNF- α and TOS levels in both serum and tissue samples. High-dose ISL significantly reversed these changes. Although NF- κ B levels were reduced in the trauma group, ISL treatment led to an increase, supporting neuronal defense mechanisms, though this was not statistically significant in serum. Histopathological analyses revealed pronounced neuronal necrosis, edema, and axonal degeneration in the trauma group, while these findings were attenuated in ISL-treated groups, particularly in the high-dose group. TUNEL analysis showed a significant reduction in apoptotic cells following ISL treatment. Functional assessments demonstrated marked motor deficits after spinal cord injury, with significant recovery observed in ISL-treated groups, particularly in Group 5 (40 mg/kg) on days 3 and 7. These findings suggest that ISL exerts neuroprotective and anti-inflammatory effects by attenuating secondary injury mechanisms after spinal cord injury.

Conclusion: Based on our results, ISL demonstrated strong neuroprotective properties in spinal cord injury through its anti-inflammatory, antioxidant, anti-apoptotic, and

neuroregenerative effects. These effects were dose-dependent and became more pronounced during the subacute phase. ISL significantly improved both functional and histological outcomes, supporting its potential as a therapeutic agent for spinal cord injury.

Keywords: isoliquiritigenin, neuronal regeneration, trauma, rat, spinal cord

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xiii
TABLOLAR DİZİNİ.....	xiv
RESİMLER DİZİNİ.....	xv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
TEZ METNİ.....	1
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Medulla Spinalis Hasarının Tarihçesi	3
2.2.Medulla Spinalisin Embriyolojisi.....	4
2.3. Medulla Spinalis'in Anatomik Yapısı.....	5
2.4. Medulla Spinalis Hasarında Etyoloji ve Epidemiyoloji.....	9
2.5. Medulla Spinalis Hasarında Fizyopatoloji.....	10
2.5.1. Primer Hasar.....	10
2.5.2. Sekonder Hasar.....	11
2.5.2.1. Hemoraji, İskemi ve Reperfüzyon.....	12
2.5.2.2. Vasküler Değişiklikler	12
2.5.2.3. Serbest Radikaller ve Serbest Yağ Asitleri.....	12
2.5.2.4. İmmün ve İnflamatuvar Yanıtlar.....	13
2.5.2.5. Glutamat Eksitotoksitesisi.....	14
2.5.2.6. Aksonal Hasarda İyonik Mekanizmalar ve Kalsiyumun Rolü.....	14
2.5.2.7. Apoptozis.....	15
2.6. Isoliquiritigenin.....	20
2.6.1. Isoliquiritigenin'in Moleküler Yapısı.....	20
2.6.2. Isoliquiritigenin'in Biyokaktivitesi.....	20
2.6.2.1. Antiinflamatuvar Etkileri.....	20
2.6.2.2. Antimikrobiyal Aktivitesi.....	21
2.6.2.3. Antidiyabetik Etkileri.....	21
2.6.2.4. İmmünmodülatör Özellikleri.....	21
2.6.2.5 Anti-anjiogenik Etkisi	22

2.6.2.6 Kanser Üzerindeki Potansiyel Etkisi.....	22
2.6.2.7 Antioksidan ve Faz II Enzimler Üzerindeki Etkisi	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Basso Beattie and Bresnahan Testi Modifiye Tarlov Skalası.....	27
3.2. İstatiksel Analiz.....	30
3.3. Deneysel Medulla Spinalis Hasarı Modelinde Cerrahi Uygulama Aşamaları	31
4. BULGULAR	33
4.1. Serum Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	33
4.1.1 Serum BDNF Düzeyleri.....	34
4.1.2 Serum NF- κ B Düzeyleri.....	35
4.1.3 Serum TGF- β 1 Düzeyleri.....	36
4.1.4 Serum TNF- α Düzeyleri.....	37
4.1.5 Serum TOS Düzeyleri.....	38
4.1.6 Serum TAS Düzeyleri.....	39
4.1.7 Serum Biyokimyasal Verilerin Analizi.....	40
4.2. Doku Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi.....	41
4.2.1 Doku BDNF Düzeyleri.....	42
4.2.2 Doku NF- κ B Düzeyleri.....	43
4.2.3 Doku TGF- β 1 Düzeyleri.....	44
4.2.4 Doku TNF- α Düzeyleri.....	45
4.2.5 Doku TOS Düzeyleri.....	46
4.2.6 Doku TAS Düzeyleri.....	47
4.2.7 Doku Biyokimyasal Verilerin Analizi.....	48
4.3. Histolojik prosedürler.....	49
4.3.1. Histopatoloji.....	49
4.3.2. TUNEL Methodu ve İstatistiksel Analiz.....	49
4.3.3.Bulgular ve TUNEL Sonuçları.....	49
4.3.4. Histopatolojik Bulgular ve İstatistiksel Analiz.....	51
4.4. Fiziksel Test Verileri.....	53
4.4.1.Deney Gruplarında Zamana Bağlı BBB Testi Skorlarının Grup İçi Karşılaştırılması.....	54
4.4.2.Deney Gruplarında Zamana Bağlı Modifiye Tarlov Testi Skorlarının Grup İçi Karşılaştırılması.....	56
4.4.3. Deneyin 7. Gün Modifiye Tarlov Skorlarının Gruplar Arası Değerlendirilmesi	58

4.4.4. Deneyin 7. Gün BBB Skorlarının Gruplar Arası Değerlendirilmesi.....	59
5.TARTIŞMA.....	60
5.1. Oksidatif Stres Üzerine Etkileri.....	60
5.2. İnflamatuvar Yanıt Üzerine Etkileri	61
5.3. Nöronal Rejenerasyon Üzerine Etkileri.....	64
5.4. Histopatolojik Hasar ve Apoptoz Üzerine Etkileri	65
5.5. Fonksiyonel Nörolojik İyileşme Üzerine Etkileri.....	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
7.KAYNAKLAR.....	69

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik-1: Serum biyokimya verilerinde grup içi BDNF değerlerinin dağılımı.....	34
Grafik-2: Serum biyokimya verilerinde grup içi NF-κB değerlerinin dağılımı.....	35
Grafik-3: Serum biyokimya verilerinde grup içi TGF-β1 değerlerinin dağılımı.....	36
Grafik-4: Serum biyokimya verilerinde grup içi TNF-α değerlerinin dağılımı.....	37
Grafik-5: Serum biyokimya verilerinde grup içi TOS değerlerinin dağılımı.....	38
Grafik-6: Serum biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı.....	39
Grafik-7: Doku biyokimya verilerinde grup içi BDNF değerlerinin dağılımı.....	42
Grafik-8: Doku biyokimya verilerinde grup içi NF-κB değerlerinin dağılımı.....	43
Grafik-9: Doku biyokimya verilerinde grup içi TGF-β1 değerlerinin dağılımı.....	44
Grafik-10: Doku biyokimya verilerinde grup içi TNF-α değerlerinin dağılımı.....	45
Grafik-11: Doku biyokimya verilerinde grup içi TOS değerlerinin dağılımı.....	46
Grafik-12: Doku biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı.....	47
Grafik-13: Grupların TUNEL-pozitif hücrelere göre grupların karşılaştırılması.....	50
Grafik-14: Histopatolojik hasar skoruna göre grupların karşılaştırılması.....	51
Grafik-15: Grup İçi 0. ve 1. Gün BBB Skorlarının Karşılaştırılması.....	54
Grafik-16: Grup İçi 0. ve 3. Gün BBB Skorlarının Karşılaştırılması.....	54
Grafik-17: Grup İçi 0. ve 7. Gün BBB Skorlarının Karşılaştırılması.....	55
Grafik-18: Grup İçi 0. ve 1. Gün Modifiye T.S.'lerinin Karşılaştırılması.....	56
Grafik-19: Grup İçi 0. ve 3. Gün Modifiye T.S.'lerinin Karşılaştırılması.....	56
Grafik-20: Grup İçi 0. ve 7. Gün Modifiye T.S.'lerinin Karşılaştırılması.....	57
Grafik-21: Gruplar Arası 7. Gün Modifiye T.S.'lerinin Karşılaştırılması	58
Grafik-22: Gruplar Arası 7. Gün BBB Skorların Karşılaştırılması.....	59

TABLolar DİZİNİ

Tablo-1: Basso Beattie and Bresnahan (BBB) Testi.....	29
Tablo-2: Modifiye Tarlov Skalası.....	30
Tablo-3: Serum Biyokimya Verileri.....	33
Tablo-4: Grupların BDNF Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	34
Tablo-5: Grupların NF-κB Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	35
Tablo-6: Grupların TGF-β1 Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	36
Tablo-7: Grupların TNF-α Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	37
Tablo-8: Grupların Tos Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	38
Tablo-9: Grupların Tas Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	39
Tablo-10: Doku Biyokimya Veriler.....	41
Tablo-11: Grupların BDNF Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	42
Tablo-12: Grupların NF-κB Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	43
Tablo-13: Grupların TGF-β1 Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	44
Tablo-14: Grupların TNF-α Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	45
Tablo-15: Grupların TOS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	46
Tablo-16: Grupların TAS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri.....	47
Tablo-17: Deneyin 0. 1.3. ve 7. Gün BBB ve Modifiye Tarlov Skorları.....	53

RESİMLER DİZİNİ

Resim-1: Spinal Kordun Gelişimi.....	4
Resim-2: Spinal Sinirler ve Vertebra İlişkisi.....	7
Resim-3: Medulla Spinalis Anatomisi.....	8
Resim-4: Isoliquiritigenin' in Moleküler Yapısı.....	20
Resim-5: Median Vertikal İnsizyon ve Bilateral Spinal Adelelerin Diseke Edilmesi.....	31
Resim-6: T7 Total Laminektomi	32
Resim-7: Titanyum Çubuk Kullanılarak Spinal Kord Travması.....	32
Resim-8: İpek Sütürler ile Cildin Kapatılması.....	32
Resim-9: Tunel Pozitif Hücreler.....	51
Resim-10: Medulla Spinalis Kesitlerinde Histopatolojik Görüntüler.....	53

KISALTMALAR DİZİNİ

- ANOVA: Analysis of Variance
BBB: Basso Beattie Bresnahan Skoru
BDNF: Brain-Derived Neurotrophic Factor
DMSO: Dimethyl Sulfoxide
ISL: Isoliquiritigenin
MMP: Matriks Metalloproteinaz
NF- κ B: Nuclear Factor Kappa B
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
TAS: Total Antioxidant Status
TGF- β 1: Transforming Growth Factor Beta 1
TMSH: Travmatik Medulla Spinalis Hasarı
TNF- α : Tumor Necrosis Factor Alpha
TOS: Total Oxidative Status
TUNEL: Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick-End Labeling

TEZ METNİ

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Travmatik medulla spinalis hasarı (TMSH), bireyin yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyen, yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahip, karmaşık patofizyolojik süreçler içeren bir klinik tablodur. Bu tür yaralanmalar, başta trafik kazaları, düşmeler, spor yaralanmaları ve şiddet olayları olmak üzere çeşitli travmatik etkenler sonucu ortaya çıkar ve spinal kordun primer mekanik hasarıyla birlikte çok aşamalı sekonder yıkım süreçlerini tetikler. Sekonder hasar mekanizmaları; inflamasyon, oksidatif stres, glutamat eksitotoksitesisi, kalsiyum dengesizliği, apoptoz ve gliyozis gibi biyokimyasal ve hücreyel olayları içerir. Bu süreçler, nöronal hücre ölümünü artırarak geri dönüşümsüz nörolojik kayıplara neden olur ve etkin bir tedavi şansı azalır.(Shibahashi et al., 2019)

Modern tedavi yaklaşımları, sekonder hasarın baskılanmasına yönelik farmakolojik ajanlar üzerine yoğunlaşmakta; ancak klinik pratikte başarıyı artıracak etkili tedavi seçenekleri hâlâ sınırlı kalmaktadır. Bu bağlamda, nöroprotektif, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri ile dikkat çeken doğal biyoaktif moleküllerin araştırılması önem kazanmaktadır.(Lifshutz & Colohan, 2004)

Meyan kökü kaynaklı bir flavonoid olan Isoliquiritigenin (ISL), son yıllarda antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser ve nöroprotektif etkileri nedeniyle deneysel çalışmalarda ilgi odağı olmuştur. ISL'nin, reaktif oksijen türlerini baskılayarak hücreyel hasarı azalttığı, proinflamatuvar sitokinleri inhibe ettiği ve sinaptik plastisiteyi destekleyen nörotrofik faktörlerin ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. Ancak ISL'nin, medulla spinalis hasarında rejeneratif etkileri henüz yeterince değerlendirilmemiştir. Bu eksiklik, TMSH'ye yönelik yeni tedavi yaklaşımları geliştirilmesi açısından önemli bir bilimsel boşluğu işaret etmektedir.(Fu & Jia, 2021; Zeng et al., 2017; Zhu et al., 2019)

Deneyimizde 5 grup halinde toplam 45 adet rat kullanıldı. Grup-3, grup-4 ve grup-5'e Modifiye Allen Ağırlık Düşürme Metodu ile spinal hasar oluşturuldu. Grup-4 ve grup-5'e intraperitoneal yolla sırasıyla 20 mg/kg ve 40 mg/kg dozlarında ISL uygulandı. Bu dozlar, önceki çalışmalarda da nöroprotektif ve antiinflamatuvar etkinliği kanıtlanmış doz aralıkları olup, özellikle santral sinir sistemi hasarlarında etkinliğini göstermiştir.(Zeng et al., 2017)

7 gün sonra bütün ratlar intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edildi. Çalışma sonunda, tüm gruplardan eksize edilen T7-T9 arası medulla spinalis segmentleri ile birlikte alınan kan

serum örnekleri, ilgili biyokimyasal ve histolojik analizler için laboratuvarlara gönderilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, deneysel olarak oluşturulmuş TMSH modelinde, ISL'nin nöroprotektif etkinliğini çok yönlü olarak değerlendirmektir. Bu kapsamda; oksidatif stres belirteçleri (TAS ve TOS), proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , TGF- β 1, NF- κ B) ve nörotrofik faktör (BDNF) düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle analiz edilmiştir. Ayrıca, histopatolojik değişiklikler, apoptotik hücre yoğunluğu ve glial hasar düzeyi histolojik, immünohistokimyasal ve TUNEL yöntemleriyle değerlendirilmiştir.

Tüm bu biyolojik ve morfolojik analizlerin yanı sıra, BBB skoru ile modifiye Tarlov skalası kullanılarak, davranışsal düzeyde nörolojik fonksiyonunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu sayede, ISL'nin TMSH'de sekonder hasarı azaltıcı ve rejenerasyonu destekleyici etkileri ortaya konularak, medulla spinalis hasarının tedavisinde alternatif bir farmakolojik ajan olarak kullanımına yönelik bilimsel bir temel oluşturulması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Medulla Spinalis Hasarının Tarihçesi

TMSH, insan sağlığını en ciddi şekilde tehdit eden nörotravmatik olaylardan biri olup, tarih boyunca hekimlerin ilgisini çekmiştir. Antik Mısır dönemine ait Edwin Smith Cerrahi Papirüsü'nde, servikal omurga dislokasyonu sonrası gelişen parapleji ve idrar retansiyonu gibi klinik bulgular ilk kez detaylı biçimde tanımlanmıştır. Bu vakaların tedavisiz olarak nitelendirilmesi, yüzyıllar boyunca TMSH'ye yönelik umutsuz yaklaşımın temelini oluşturmuştur.(Feldman & Goodrich, 1999)

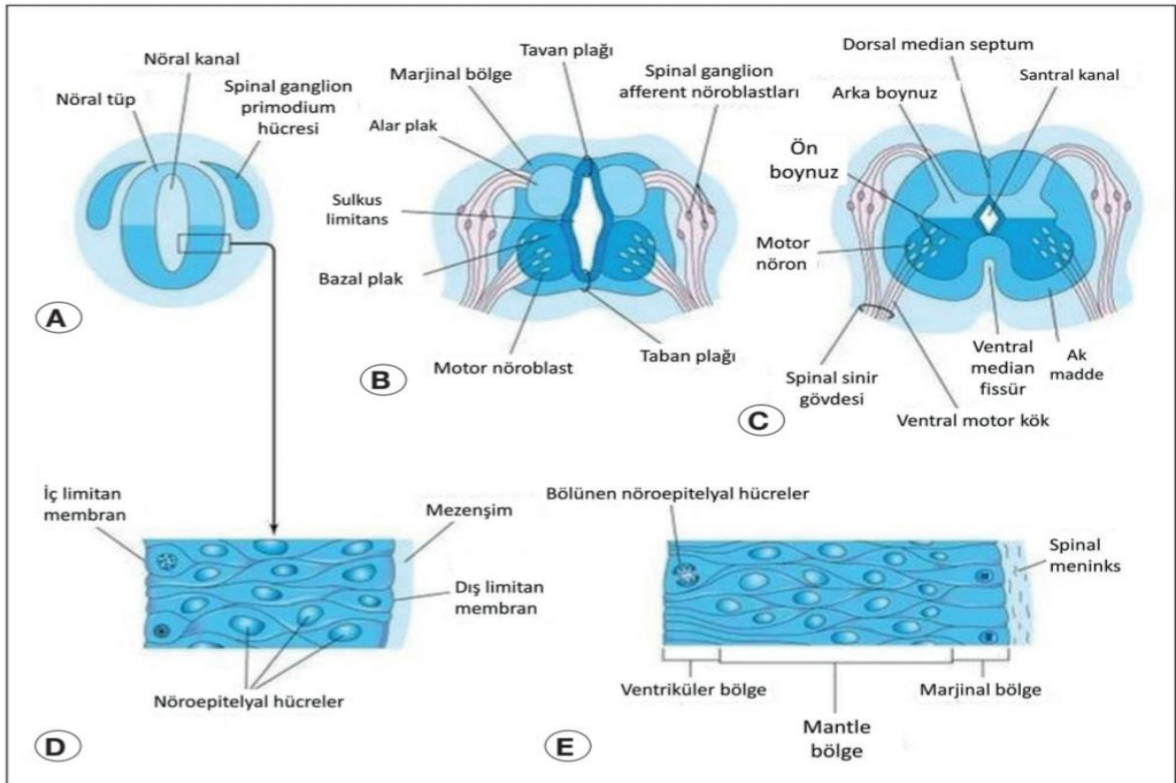
Antik Yunan ve Roma döneminde Hipokrat, omurga deformitelerinin traksiyon ile tedavisini tanımlamış; Galen ise deneysel hayvan modelleriyle TMSH'nin motor ve duyuşal işlev kaybına yol açtığını göstermiştir. Orta Çağ'da Paulus Aegineta, ilk kez dekompresif cerrahi fikrini ortaya koymuş, ancak bu yaklaşımlar yaygın kabul görmemiştir. Rönesans ve sonraki dönemlerde cerrahi müdahaleler artmış, ancak enfeksiyon ve anestezi eksikliği nedeniyle mortalite yüksek kalmıştır.(Marketos & Skiadas, 1999)

19.yüzyılın sonlarında antisepsi, anestezi ve nöroanatomi alanındaki gelişmeler cerrahiye daha uygulanabilir hale getirmiştir. 20. yüzyıl başlarında Alfred R. Allen tarafından geliştirilen ağırlık düşürme modeli, deneysel TMSH araştırmalarında standardizasyon sağlamış ve sekonder hasar kavramının temelini atmıştır. Bu dönemde kortikosteroid tedavileri, hipotermi, hiperbarik oksijen uygulamaları ve sinir rejenerasyonunu hedefleyen çeşitli farmakolojik yaklaşımlar araştırılmıştır.(Lifshutz & Colohan, 2004)

Günümüzde, cerrahi tekniklerin gelişimi, yoğun bakım uygulamaları ve rehabilitasyon hizmetlerinin bütüncül yaklaşımı sayesinde prognoz önemli ölçüde iyileşmiştir. Yirmi birinci yüzyılda TMSH'ye yönelik araştırmalar, nörobiyoloji alanında kök hücre tedavileri, miyelin inhibitörlerine karşı geliştirilen antikolar ve inflamatuvar süreçlerin daha iyi anlaşılması gibi yenilikçi yaklaşımlar etrafında şekillenmektedir. Fonksiyonel nöromüsküler stimülasyon ve ileri MR görüntüleme teknikleri hem tedavi hem de tanı açısından önemli potansiyel sunarken, TMSH sonrası rejenerasyonu destekleyen moleküler hedeflere yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Klinik karar verme süreçlerinde moleküler düzeyde görüntüleme olanaklarının artması, gelecekte bireyselleştirilmiş tedavi uygulamalarını mümkün kılacaktır. Bununla birlikte, hastalığın önlenmesine yönelik toplum temelli eğitim ve farkındalık çalışmaları da hekimlerin sorumluluk alanına dahil edilerek, sağlık hizmetlerinin koruyucu boyutu güçlendirilmelidir.(Popovich, 2014)

2.2. Medulla Spinalisin Embriyolojisi

İnsan embriyosunda omuriliğin gelişimi, gastrulasyon süreciyle başlamakta ve nörolasyon evresiyle devam etmektedir. Bu süreçte, ektoderm tabakasından türeyen nöral plak, notokordun indükleyici etkisiyle kalınlaşarak nöral kıvrımlar oluşturur. Kıvrımların orta hatta birleşmesiyle nöral tüp meydana gelir; bu yapı merkezi sinir sisteminin temelini oluşturur. Nöral tüpün kranial ucu beyin yapılarının, kaudal ucu ise omuriliğin gelişimini sağlar.(Öztürk & Börcek, 2024)



Resim-1: Spinal kordun gelişimi.

A-C) Sırasıyla 23 günlük, 6 hafta ve 9 haftalık embriyoda nöral tüp yapısının transvers görüntüsü. D) Nöral tüp duvar kesiti. E) Gelişmekte olan spinal kord duvarına ait üç ayrı bölge.(Öztürk & Börcek, 2024)

Nöral tüp oluşumu iki aşamada gerçekleşir: primer ve sekonder nörolasyon. Primer nörolasyon üçüncü haftada başlar ve dördüncü haftanın sonunda tamamlanır. Sekonder nörolasyon ise kaudal segmentlerde (sakral ve koksigeal) görülür. Nöral tüpün oluşumu sırasında nöral kıvrımların kenarlarında yer alan hücreler, nöral krest hücrelerine dönüşür.

Bu hücreler, periferik sinir sistemi, melanositler ve bazı kraniofasiyal yapılar gibi çok sayıda dokunun gelişiminde rol alır.(Singh & Munakomi, 2023)

Nöral tüpün kapanması kritik öneme sahiptir. Kranial nöropor yaklaşık 25. günde, kaudal nöropor ise 27. günde kapanır. Bu kapanmanın başarısız olması durumunda nöral tüp defektleri ortaya çıkar; en sık görülen formları anensefali ve spina bifidadır.(Anjum et al., 2020)

Nöral tüpün duvarında gelişimsel olarak üç temel zon meydana gelir: ventriküler, manto ve marjinal zon. Ventriküler zon nöroepitelyal hücrelerin proliferasyon bölgesidir. Manto zon gri cevheri, marjinal zon ise beyaz cevheri oluşturur. Embriyonal dönemde omurilik, vertebral kolon ile aynı uzunluktadır. Ancak doğumdan sonra vertebral kolondaki büyüme omuriliğe kıyasla daha hızlıdır. Bu nedenle erişkinlerde omurilik genellikle L1–L2 vertebra seviyesinde sonlanır.(Öztürk & Börcek, 2024)

2.3. Medulla Spinalis'in Anatomik Yapısı

Medulla spinalis, merkezi sinir sisteminin, omurga kanalı içinde foramen magnum'dan başlayarak erişkinde yaklaşık L1-L2 vertebra düzeyine kadar uzanan bölümüdür. Spinal kord, 31 segmentten oluşur: 8 servikal, 12 torakal, 5 lomber, 5 sakral ve 1 koksigeal segment. Her segment, bir çift spinal sinir ile ilişkilidir ve vücudun belirli bölgelerine motor ve duysal innervasyon sağlar.(Cramer & Darby, 2013)

Makroskopik olarak, spinal kordun çapı servikal ve lomber bölgelerde genişler; bu bölgeler servikal ve lomber intumesanslar olarak adlandırılır. Bu genişlemeler, üst ve alt ekstremitelerin innervasyonu için gereken nöron yoğunluğuna bağlıdır.(Hermes et al., 2023)

Medulla spinalis kesitsel olarak incelendiğinde, merkezde gri madde, çevresinde ak madde bulunur. Gri madde dorsal, ventral ve özellikle torakal ile üst lomber segmentlerde belirginleşen lateral boynuzlar şeklinde organize olmuştur.

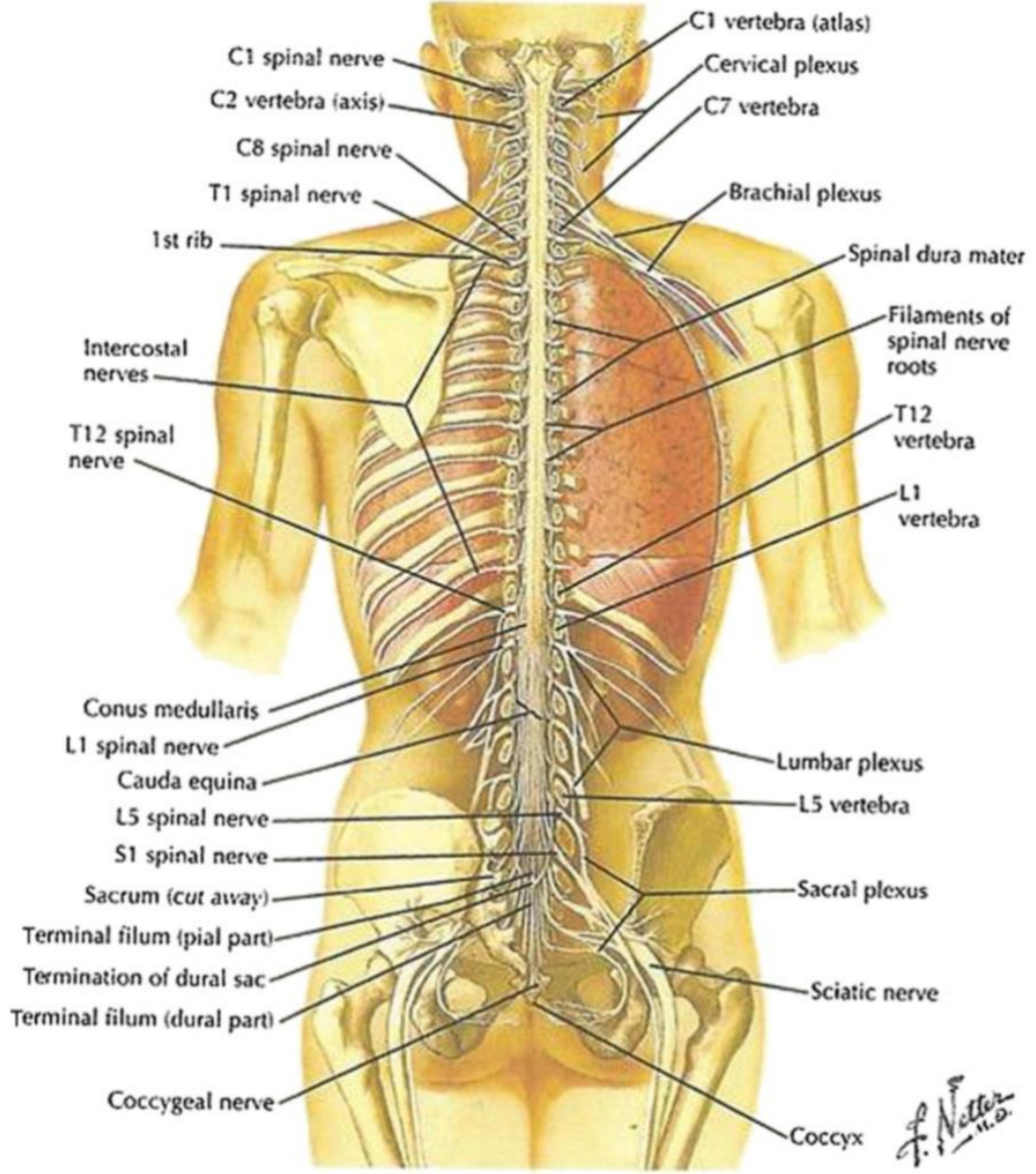
- Dorsal boynuzlar duysal bilgi alımından,
- Ventral boynuzlar motor bilgi çıkışından,
- Lateral boynuzlar ise otonomik sinir sisteminin preganglionik nöronlarından sorumludur.(Goto & Otsuka, 1997)

Ak madde, çeşitli sinir yollarını barındırır. Başlıca yukarı çıkan yollar arasında fasikulus gracilis ve fasikulus cuneatus bulunur; aşağı inen yollar arasında ise kortikospinal traktlar

önemli yer tutar. Distal uçta, spinal kord conus medullaris adı verilen konik bir yapıyla sonlanır. Buradan çıkan sinir kökleri cauda equina yapısını oluşturur ve alt ekstremiteler, pelvik organlar ve perineal bölgenin innervasyonunu sağlar.(Hermes et al., 2023)

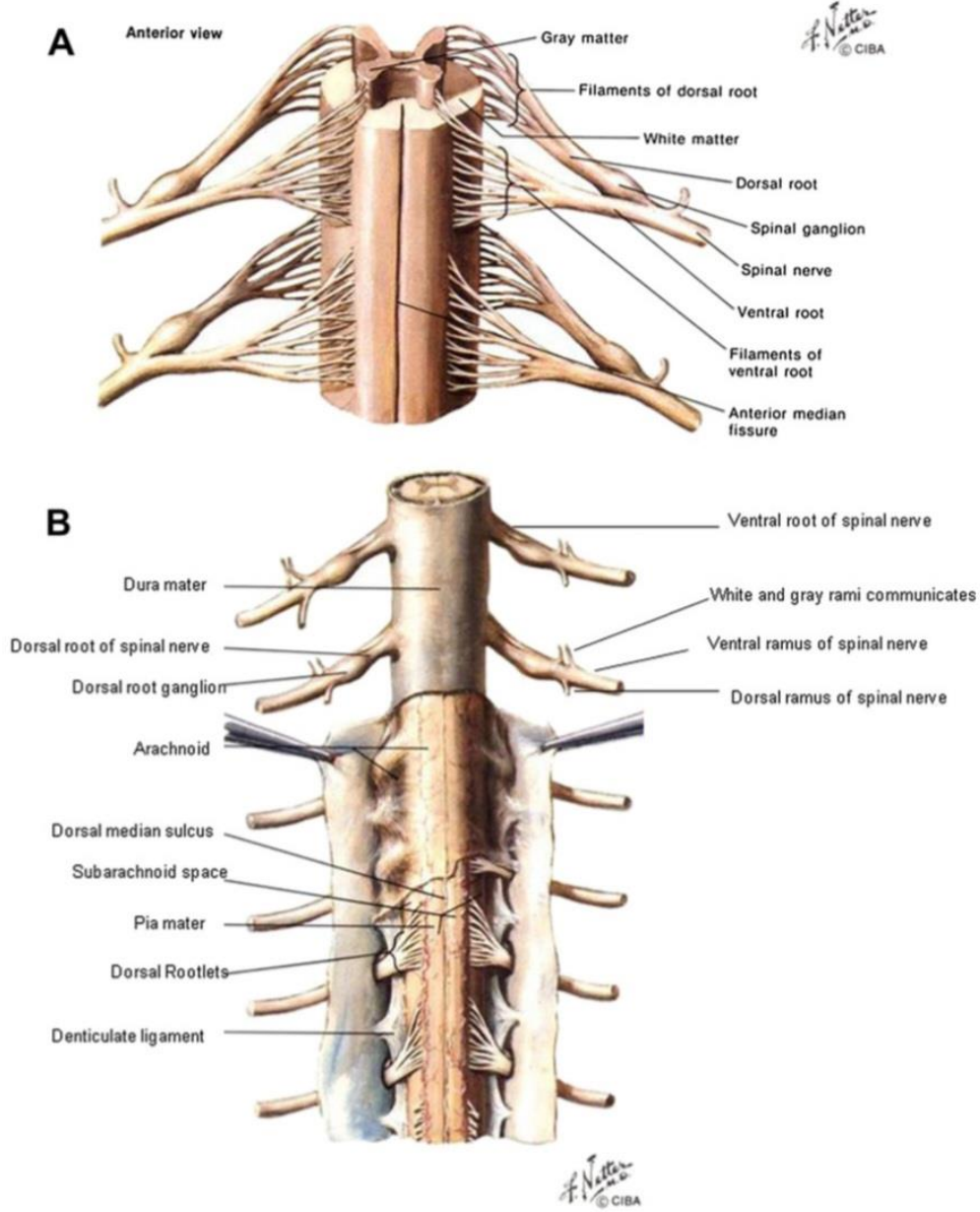
Spinal kordun kanlanması longitudinal ve segmental arterler aracılığıyla sağlanır. Ana arterler arasında yer alan arteria spinalis anterior, medulla oblongatadan köken alarak spinal kordun ventral yüzeyi boyunca ilerler ve kordun ön iki üçünün kanlanmasından sorumludur. İki adet arteria spinalis posterior ise posterolateral yüzeylerde seyreder ve arka kolonların, dorsal gri boynuzların kanlanmasını sağlar. Bu longitudinal arterler, interkostal ve lomber arterlerden çıkan segmental arterlerle desteklenir. Özellikle arteria radicularis magna (Adamkiewicz arteri), alt torakal ve üst lomber segmentlerin beslenmesinde kritik rol oynar. Anterior spinal arter tarafından perfüze edilen alanlar motor fonksiyon için önem taşıırken, arterial watershed bölgeleri (özellikle T4–T8 düzeyleri) iskemiye en duyarlı bölgelerdir. Venöz drenaj yüzeysel ve derin sistemler tarafından sağlanır; anterior ve posterior spinal venler pial venöz plexus içinde yer alır ve radiküler venler aracılığıyla internal vertebral venöz plexusa (Batson plexusu) boşalır. Vertebral kanal içindeki bu valfsiz venöz sistem, spinal kordun venöz basınç değişikliklerine hassas olmasına ve retrograd metastatik yayılıma yatkın olmasına neden olur. Arteriyel ve venöz yapıların anatomik bütünlüğü, spinal kordun fonksiyonel sürekliliğinin korunması ve travmatik, iskemik ya da neoplastik patolojilerde prognozun belirlenmesi açısından kritik öneme sahiptir.(Cohen et al., 2016; Krauss, 1999; Wiltse et al., 1993)

Spinal kordun normal yapısının korunması hem istemli motor fonksiyonlar hem de otonomik süreçlerin sürdürülebilmesi için hayati önem taşır. Anatomik veya vasküler bozukluklar, ciddi nörolojik defisitlere yol açabilir.(McCormick & Stein, 1990)



Resim-2: Spinal Sinirler ve Vertebra ilişkisi

Omurilik, vertebral ve diğer kemik yapılarla olan anatomik ilişkisini gösterecek şekilde in situ konumlandırılarak tasvir edilmiştir. Çizim, Dr. Frank Netter tarafından yapılmıştır. (Netter illüstrasyonu www.netterimages.com adresinden alınmıştır. © Elsevier, Inc. Tüm hakları saklıdır.)



Resim-3: Medulla Spinalis Anatomisi

(A) Omuriliğin anterior görünümünde, spinal kordun dorsal ve ventral kökleri ile spinal sinirlerin oluşumu; bu sinirlerin dorsal ve ventral dalları ile rami communicantes yapıları gösterilmektedir. Çizim: Dr. Frank Netter.

(B) Omuriliğin posterior görünümünde ise meningeal tabakalar, dentikulat bağlar ve dorsal kök gangliyonları tasvir edilmiştir. Çizim: Dr. Frank Netter. (Netter illüstrasyonu www.netterimages.com adresinden alınmıştır. © Elsevier, Inc. Tüm hakları saklıdır.)

2.4. Medulla Spinalis Hasarında Etyoloji ve Epidemiyoloji

TMSH, bireyler ve toplumlar üzerinde ciddi fiziksel, psikolojik ve ekonomik yük oluşturan önemli bir sağlık sorunudur. TMSH' nin etyolojisi ve epidemiyolojisi; coğrafi bölge, sosyoekonomik koşullar ve zaman içinde değişim göstermektedir. Bu konuda yapılan araştırmalar, risk faktörlerinin tanımlanması ve etkili önleyici stratejilerin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Dünya genelinde TMSH insidansı yılda milyon başına 15 ile 54 arasında değişmekte olup, gelişmekte olan ülkelerde ortalama 22,5/milyon/yıl olarak bildirilmiştir. Erkeklerde görülme sıklığı kadınlara göre belirgin şekilde yüksektir ve olguların yaklaşık %80'ini erkekler oluşturmaktadır. TMSH en sık 30 yaş altı genç erişkinlerde gözlenmekle birlikte, son yıllarda yaş ortalamasında artış eğilimi mevcuttur. Özellikle yaşlı popülasyonda insidansın arttığı ve yaşlı bireylerde düşük enerjili travmaların önemli bir etyolojik faktör olduğu bildirilmektedir. Erkek/kadın oranı genellikle 3:1 ile 5:1 arasında değişmekte olup, zamanla bu farkın azaldığı gözlemlenmektedir. (Golestani et al., 2022; Kang et al., 2017; Shin, 2020)

TMSH'nin insidansı ve etyolojik dağılımı, ülkeler ve bölgeler arasında farklılık göstermektedir; bu değişim ekonomik, kültürel ve sosyal faktörlere bağlıdır. Etyolojik nedenler arasında motorlu taşıt kazaları (%38-43), düşmeler (%31-34), spor yaralanmaları ve şiddet olayları ön plandadır. Gelişmekte olan ülkelerde motorlu taşıt kazaları ve yüksekten düşmeler daha sık karşılaşılan etiyolojik faktörlerdir. Son yıllarda ateşli silah yaralanmalarında azalma, buna karşılık düşük enerjili travmalar ve trafik kazalarına bağlı bu oranlarında artış gözlenmiştir. (Shibahashi et al., 2019)

Medulla spinalis hasarlarında, travmatik etiyolojiler kadar nontravmatik nedenler de klinik açıdan önemli bir yer tutmaktadır. TMSH aksine, nontravmatik medulla spinalis hasarları genellikle daha sinsi başlangıçlı olup tümörler (özellikle metastatik tümörler), dejeneratif hastalıklar, enfeksiyonlar (örneğin vertebral osteomyelit), vasküler malformasyonlar ve inflamatuvar myelitler ön plandadır. Tüm olguların yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır ve bu grupta en sık neden spinal tümörlerdir. (Zarate-Kalfopulos et al., 2015)

TMSH, yaralanmanın seviyesi ve şiddeti prognozu belirleyen temel faktörlerdir. Servikal bölge, en sık etkilenen bölge olup, tetrapleji ve parapleji oranları birbirine yakın bildirilmiştir. Son yıllarda komplet yaralanma oranlarının azaldığı, inkomplet yaralanma oranlarının ise arttığı bildirilmektedir. (Ackery et al., 2004; Barbiellini Amidei et al., 2022)

TMSH sonrası en sık karşılaşılan komplikasyonlar arasında elektrolit dengesizlikleri, akciğer enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları ve dekübitüs ülserleri yer almaktadır. Son yıllarda yaşlı popülasyonda ve kadınlarda bu durumun insidansında artmakta olduğu bildirilmektedir. Özellikle yaşlı bireylerde düşükten düşme gibi düşük enerjili travmalar da önemli bir risk faktörü haline gelmiştir.(Golestani et al., 2022)

Bu veriler doğrultusunda, etkili önleme stratejileri geliştirmek için bölgesel ve ulusal düzeyde epidemiyolojik veri tabanlarının oluşturulması gereklidir. Standart raporlama sistemlerinin ve uluslararası veri paylaşım platformlarının kurulması, TMSH'nin önlenmesi ve yönetimi için yürütülecek karşılaştırmalı çalışmalar açısından kritik öneme sahiptir.

2.5. Medulla Spinalis Hasarında Fیزیopatoloji

TMSH, ciddi motor, duyu ve otonom disfonksiyonlara yol açan, yıkıcı bir nörolojik ve patolojik durumdur. Patofیزیolojisi, primer ve sekonder hasar olmak üzere iki temel evrede incelenir. Primer hasar, travma anında gelişen mekanik yıkımı ifade ederken; sekonder hasar, bunu takiben ortaya çıkan ve iskemi, oksidatif stres, inflamatuvar süreçler, apoptoz mekanizmaları ile nöronal ve glial hücre kaybı gibi çok sayıda biyokimyasal ve hücrenel olayı içeren karmaşık bir süreçtir.

2.5.1. Primer Hasar

TMSH genellikle omurgaya ani bir travma sonucu meydana gelir ve vertebral kırıklar veya dislokasyonlarla karakterizedir. Yaralanmadan hemen sonra başlayan ilk evre, primer hasar evresi olarak adlandırılır. Primer hasar; kemik fragmanlarının oluşumu, spinal ligamentlerin yırtılması, nöral parankimin yıkımı, aksonal ağın bütünlüğünün bozulması, hemoraji ve glial membran bütünlüğünün bozulması gibi yapısal bozulmaları içerir. Hasarın şiddeti, başlangıçtaki doku yıkımının kapsamı ve spinal kord üzerindeki kompresyonun süresi ile doğrudan ilişkilidir. Primer yaralanmada meydana gelen biyokimyasal, mekanik ve fiziyojik değişiklikler, sekonder hasar mekanizmalarının tetiklenmesine zemin hazırlar. Klinik olarak, bu evrede tam fonksiyon kaybı izlenebilmesine rağmen, genellikle bazı aksonlar sağlam kalır ve bu durum tam olmayan, kısmi bir yaralanma tablosunu yansıtır.(Ahuja et al., 2017; Rowland et al., 2008)

Primer hasarın oluşumunda dört temel mekanizma tanımlanmıştır:

a) Travma ve Kalıcı Kompresyon: İlk ve en yaygın mekanizmadır. Travma sonucu omurilik üzerinde kalıcı bası oluşur. Özellikle burst fraktürlerinde, kemik fragmanlarının

kanal içine yer değiştirmesi ve akut disk herniasyonları gibi durumlarda omuriliğe sürekli baskı uygulanır. Bu mekanizma, primer mekanik basının hem doğrudan nöronal hasara hem de damarların sıkışmasına bağlı iskemik hasara yol ağmasına neden olur.

b) Geçici Kompresyon: Özellikle eşlik eden dejeneratif omurga hastalıklarının (örneğin servikal spondilozis) varlığında, hiperekstansiyon tipi travmalar sonrasında geçici omurilik sıkışması meydana gelebilir. Bu durum, omurga travması sonrası kısa süreli fakat ciddi omurilik disfonksiyonuna neden olabilir.

c) Distraksiyon: Spinal kordun vertikal düzlemde çekilmesi veya gerilmesi anlamına gelir. Distraksiyon yaralanmaları, spinal kordun mikrovasküler dolaşımını ciddi şekilde bozar, iskemiye ve nöronal hasara yol açar. Özellikle pediatrik yaş grubu, bağ dokusunun ve ligamentlerin esnekliği nedeniyle distraksiyon mekanizması daha sık gözlenir.

d) Transeksiyon/Laserasyon: Yüksek enerjili travmalarda, serbest kemik fragmanlarının veya yabancı cisimlerin omuriliği lasere etmesi veya tamamen transeksiyonu ile meydana gelir. Lokal, kısmi hasardan tam kesiye kadar değişen şiddette olabilir. Spinal kordun tam transeksiyonu, motor ve duyu fonksiyonlarının kaybı ile sonuçlanır. (Dumont et al., 2001)

2.5.2. Sekonder Hasar

TMSH'ye takiben gelişen sekonder hasar süreci, hücresel ve moleküler düzeyde ilerleyen, çok aşamalı bir patolojik yanıtı ifade eder. Hücre içi kalsiyum birikimi, reaktif oksijen türleri ve glutamat düzeylerindeki artış; nöronal eksitotoksisite, nükleik asit ve protein hasarı ile sonuçlanarak nörolojik fonksiyon kaybına yol açar. Bu süreçte hücresel geçirgenlik artışı, apoptoz, inflamasyon, ödem, demiyelinizasyon ve glial skar oluşumu gibi çok sayıda yıkıcı olay gözlenir. Vasküler hasarı izleyen immün hücre infiltrasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırarak doku hasarını şiddetlendirir. Sekonder hasar, akut (iskemi, ödem, inflamasyon), subakut (apoptoz, demiyelinizasyon, skar oluşumu) ve kronik (kaviter dejenerasyon, aksonal kayıp) olmak üzere üç fazda ilerler. Bu süreç, kalıcı nörolojik defisitlerin temelini oluşturur. (Cuzzocrea & Reiter, 2001a; Donnelly & Popovich, 2008; Norenberg et al., 2004)

2.5.2.1. Hemoraji, İskemi ve Reperfüzyon

TMSH'ye takiben lezyon bölgesinde mikrosirkülasyonun bozulması, erken dönemde hemorajik nekrozu tetikler. Bunu takiben gelişen iskemi, özellikle kapiller ve venüllerdeki kan akımının azalması sonucu ortaya çıkar. Hipoperfüzyon, laktat gibi asidik metabolitlerin birikimine ve perivasküler pH'da azalmaya neden olarak savunma sistemlerini aktive eder ve paradoksal olarak aşırı reperfüzyon cevabını uyarır.(Koyanagi et al., 1993) Reperfüzyon evresinde süperoksit, hidroksil radikalleri ve nitrik oksit gibi reaktif oksijen türlerinde belirgin artış gözlenir. Bu serbest radikallerin aşırı üretimi, endojen antioksidan sistem kapasitesini aşarak oksidatif stresin ortaya çıkmasına neden olur. Sonuç olarak protein, lipid ve nükleik asitlerin oksidatif hasarı meydana gelir. Ayrıca bu radikaller; gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz, Na⁺/K⁺ ATPaz, mitokondriyal enzimler ve hücre membranı kanalları gibi hayati hücresel bileşenleri inhibe ederek hücresel fonksiyonların bozulmasına ve nöronal yıkımın derinleşmesine yol açar.(Cuzzocrea & Reiter, 2001b)

2.5.2.2. Vasküler Değişiklikler

Travma sonrası gelişen iskemik yanıtın şiddeti, primer hasarın derecesiyle doğrudan ilişkilidir.(Fehlings et al., 1989) Primer yaralanma spinal kordun mikrovasküler ağında bozulmaya yol açarak sekonder hasar sürecini tetikler. Süreğen kompresyon, lezyon merkezinde ve komşu beyaz cevher traktlarında iskemik-anoksik bir mikrosirkülasyon ortamı oluşturur. (Tator & Koyanagi, 1997) Gelişen ödem, 24–48 saat içinde nekroza eşlik eden şekilde lezyonun rostral ve kaudal yayılımını destekler. Mikrovasküler düzeyde hemoraji, vazospazm, tromboz ve otergülasyon kaybı gözlenirken; sistemik düzeyde, sempatik disfonksiyona bağlı vazomotor tonus kaybı nörojenik şoka neden olur. Ayrıca, yaralanma merkezinde kan–spinal kord bariyerinin bozulması, nötrofil, makrofaj ve T lenfosit infiltrasyonunu kolaylaştırarak sekonder hasarın immün/inflamatuvar boyutunu belirginleştirir.(Bareyre & Schwab, 2003)

2.5.2.3. Serbest Radikaller ve Serbest Yağ Asitleri

TMSH'ye takiben, fosfolipaz aktivitesine bağlı olarak gri cevherde serbest yağ asitleri düzeyinde dakikalar içinde artış gözlenirken, bu artış beyaz cevherde daha geç ve düşük düzeyde gerçekleşmektedir. Bu değişiklikler, serbest radikal üretimindeki artışla yakından ilişkilidir. Arachidonik asit türevleri olan eikosanoidler ve prostaglandinler, sekonder hasarın biyokimyasal mediyatörleri olarak görev yapar. İn vitro veriler, serbest yağ asitlerinin oksidatif hasarı tetikleyerek spinal hücrelerde sitotoksisteye yol açtığını

göstermektedir. Artmış serbest radikal üretimi; spinal kan akımında azalma, trombosit agregasyonu, ödem ve inflamatuvar yanıtlarla ilişkili vasküler disfonksiyona neden olur.(Toborek et al., 1999)

Serbest radikallerin hücre zarında lipit peroksidasyonu yoluyla Na^+/K^+ -ATPaz inhibisyonuna neden olduğu ve bu durumun ATPaz disfonksiyonuna ve sitoskeletal yıkıma yol açtığı bildirilmiştir. TMSH kontüzyon modellerinde, gri cevherde ve ilerleyen evrelerde kortikospinal traktlarda lipit peroksidasyon ürünlerinin biriktiği ve 4-hidroksinonenal artışının glutamat alımında azalmayla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, reaktif oksijen türlerinin astrositlerde glutamat transportunu baskıladığı ve beyaz cevherdeki gecikmiş glial hücre ölümünün altında yatan mekanizmalardan biri olabileceği öne sürülmektedir.(Volterra et al., 1994)

Serbest radikal oluşumunun diğer kaynakları arasında fosfolipaz A aktivasyonu ve mitokondriyal Ca^{2+} aşırı yüklenmesi sonucu ortaya çıkan süperoksit (O_2^-) yer alır. O_2^- ile nitrik oksit arasındaki reaksiyonla oluşan peroksinitrit (ONOO^-), güçlü bir oksidatif ajan olup doz bağımlı nöronal toksisiteye neden olur. Nitrik oksit sentaz antiserumlarıyla nitrik oksit sentezinin inhibisyonu, akut TMSH'de hücre ölümünü azaltırken; nitrik oksit sentaz eksikliği olan modellerde fonksiyonel motor iyileşmenin anlamlı şekilde hızlandığı gösterilmiştir.(Farooque et al., 2001)

2.5.2.4. İmmün ve İnflamatuvar Yanıtlar

İnflamatuvar ve immün yanıtlar, omurilik hasarına bağlı sekonder yaralanma mekanizmalarında önemli rol oynamaktadır. Sıçan modellerinde, omurilik hasarı öncesinde lökositlerin uzaklaştırılması, motor fonksiyonlarda iyileşme sağlamıştır. (Taoka et al., 1997) Yaralanma bölgesine göç eden inflamatuvar hücreler, ürettikleri sitokinler aracılığıyla serbest radikal üretimini artırarak doku hasarını derinleştirmektedir.(Blight, 1994)

Bununla birlikte, çok sayıda sitokinin farklı zamanlamalarla gösterdiği etkiler bu sürecin yorumunu güçleştirmektedir. İnterlökin-1, interlökin-6 ve $\text{TNF-}\alpha$ gibi sitokinlerden oluşan bir kokteylin omurilik hasarından sonra uygulanması, uygulama zamanına bağlı olarak inflamatuvar hücre göçü ve doku kaybı üzerinde farklı etkiler göstermiştir.(Klusman & Schwab, 1997)

$\text{TNF-}\alpha$, mikroglia, makrofajlar ve nöronlar tarafından üretilmekte olup, hasardan saatler sonra bile yüksek düzeyde kalabilmektedir. Aksonlardaki $\text{TNF-}\alpha$ immünreaktivitesi, beyaz

cevher hasarı ile ilişkili bulunmuş; in vitro çalışmalarda oligodendrosit ölümünün TNF- α aracılığıyla ve olasılıkla NO üretimi üzerinden gerçekleştiği gösterilmiştir.(Xu et al., 1998)

Santral sinir sistemi hasarlarında sitokinlerin etkileri çift yönlüdür. TNF reseptörü olmayan farelerde lezyon boyutunun arttığı ve apoptozisin daha yaygın olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, TNF'nin bazı durumlarda NF- κ B yolakları üzerinden antiapoptotik etkiler de gösterebileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, metilprednizolonun NF- κ B aktivasyonunu ve NOS indüksiyonunu baskılayarak nöroprotektif etki sağladığı gösterilmiştir.(Kim et al., 2001) TNF- α genetik olarak eksik farelerde beyaz cevher kısmen korunmuş olsa da işlevsel iyileşme sağlanamamıştır. Bu durum, TNF- α ve benzeri sitokinlerin erken dönemde zararlı, ancak geç dönemde rejeneratif süreçlerde katkı sağlayabileceğini göstermektedir. Nitekim, otoimmün T hücrelerinin santral sinir sistemi hasarından sonra fonksiyonel iyileşmeyi destekleyebileceği de ileri sürülmüştür.(Hirschberg et al., 1994; Moalem et al., 2000)

2.5.2.5. Glutamat Eksitotoksitesisi

Eksitotoksitate, glutamata aşırı veya uzun süreli maruziyet sonucunda oluşan ve genellikle nöronal hücre ölümüne yol açan bir patolojik süreçtir.(Doble, 1999) Omurilik hasarından sonra dakikalar içinde ekstraselüler glutamat düzeyleri nörotoksik seviyelere ulaşır ve glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonu nöronal ölümü tetikler. Deneysel modellerde, travma sonrası gözlenen glutamat düzeylerine eşdeğer miktarda glutamat uygulanması sağlam dokuda bile hücre ölümüne neden olmuştur.(Z. Li et al., 1995)

Başlangıçta yalnızca gri cevherde etkili olduğu düşünülse de glutamat aracılı eksitotoksitenin beyaz cevherde de sekonder hasara katkı sağladığı gösterilmiştir.(Epstein et al., 1994) Bu bulgular, glutamatın TMSH sonrası hem nöronal hem de glial düzeyde geniş kapsamlı hasar mekanizmalarını başlattığını ortaya koymaktadır.(Wrathall et al., 1997)

2.5.2.6. Aksonal Hasarda İyonik Mekanizmalar ve Kalsiyumun Rolü

TMSH sonra gelişen sekonder hasar mekanizmalarında iyonik dengesizlikler önemli bir rol oynamaktadır. Deneysel modellerde lezyon bölgesinde Na, K ve Ca iyonlarında anlamlı düzey değişiklikleri tespit edilmiştir. Bu değişiklikler, hücre membranlarının fiziksel yıkımının yanı sıra, özellikle Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinin bozulması ile açıklanmaktadır. ATPaz yetmezliği, membran depolarizasyonu ve inaktive olmayan Na⁺ kanallarının aktivasyonu sonucunda Na⁺ ve Ca²⁺ birikimine, K⁺ düzeylerinde ise azalmaya

neden olur. Bu süreç, beyaz cevher hasarının temel başlangıç aşamalarından biri olarak kabul edilmektedir.(S. Li & Stys, 2001; Stys, 1998)

Na^+ girişini takiben gelişen Ca^{2+} birikimi, özellikle $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ değiştirici pompanın ters çalışmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu mekanizma, anoksi gibi koşullarda beyaz cevherde Ca^{2+} yüklenmesinin temel kaynağı olarak gösterilmiştir. Ancak bazı çalışmalarda, ters çalışan $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ değiştiricilerin hasara katkısı tartışmalı bulunmuş ve aksonların alternatif Ca^{2+} tamponlama sistemlerinin bu yüklenmeyi kompanse edebileceği ileri sürülmüştür. Bu durum, farklı patolojik koşullar altında Ca^{2+} giriş yollarının ve ilgili hücre içi yanıtların çeşitliliğini ortaya koymaktadır.(Lopachin & Lehning, 1997) Aşırı hücre içi Ca^{2+} birikimi, çeşitli sekonder haberci sistemleri aktive ederek nöronal hasarı derinleştirir. Ca^{2+} -bağımlı proteazlar (özellikle kalpainler), nörofilament proteinleri (NF68, NF200) ve mikrotübül ilişkili protein 2 gibi hücre yapısı proteinlerini parçalayarak aksonal bütünlüğü bozar. Bu süreç, iletim blokları ve fonksiyonel kayıplarla karakterizedir. Ek olarak, voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarının aktivasyonu da sekonder hasara katkı sağlar. N- ve L-tipi kanal antagonistlerinin nöroprotektif etkileri gösterilmiş olsa da bu kanalların doğrudan aksonlarda değil, beyaz cevher astrositlerinde ifade edildiği bildirilmiştir. (Banik et al., 1998) Sonuç olarak, Na^+ ve Ca^{2+} dengesizlikleri ile voltaj kapılı kanal aktivasyonu, aksonal hasarın hem yapısal hem de fonksiyonel temellerini oluşturmaktadır. Bu iyonların dengesini bozan süreçler, sekonder omurilik hasarının başlamasında ve ilerlemesinde merkezi rol oynamaktadır.

2.5.2.7. Apoptosis

TMSH 'deki sekonder hücresel süreçlerden biri olan apoptoz, yani programlanmış hücre ölümü, özellikle nöronlar ve oligodendrositler başta olmak üzere birçok hücre tipinde gözlenmekte ve fonksiyonel kayıpların derinleşmesine yol açmaktadır. (Beattie et al., 2000)

Apoptoz, iki ana yolak üzerinden ilerler: mitokondriyal (intrinsik) ve ölüm reseptörü aracılı (ekstrinsik). Mitokondriyal yol, oksidatif stres sonucu sitokrom c salınımı ve ardından kaspaz-9 ile kaspaz-3 aktivasyonuna neden olurken; ekstrinsik yol TNF- α veya Fas ligandı gibi faktörlerin etkisiyle kaspaz-8 aracılığıyla benzer bir hücre ölüm sürecini tetikler. (Varma et al., 2013)

TMSH sonrası oluşan inflamatuvar mikroçevre, TNF- α ve IL-1 β gibi sitokinlerin artışıyla apoptozu tetikler. Ayrıca, oligodendrositlerde görülen apoptoz demiyelinizasyonla sonuçlanarak iletim bloklarına zemin hazırlar. Mikroglial aktivasyon ve oksidatif stresin etkisiyle bu süreç daha da şiddetlenir.(Beattie et al., 2000)

Deneyisel çalışmalarda kaspaz inhibitörleri ve antioksidan ajanlar, apoptozu baskılayarak nöroprotektif etki göstermiştir. Bu bulgular, apoptozun sekonder hasarın azaltılmasında tedavi hedefi olabileceğini düşündürmektedir.(Elmore, 2007)

Bu mekanizmaların literatürde tanımlanmış rolleri doğrultusunda, çalışmamızda da travmatik medulla spinalis hasarı oluşturulan rat modelinde; oksidatif stres göstergeleri (TAS, TOS), proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler (TNF- α , TGF- β 1), nörotrofik faktör (BDNF) ile anahtar transkripsiyon faktörü NF- κ B'nin ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiş, sekonder hasar sürecine katkıları çok yönlü olarak analiz edilmiştir

Total Oksidatif Status (TOS): Bir biyolojik örnekte bulunan tüm oksidan moleküllerin (reaktif oksijen ve azot türleri, serbest radikaller, lipid peroksidleri) toplam seviyesini ölçen parametredir. Oksidatif stresin organizmadaki varlığını ve şiddetini değerlendirmede önemli bir biyobelirteçtir. Oksidan-antioksidan dengesizliği sonucunda gelişen oksidatif stres, kardiyovasküler hastalıklardan nörodejeneratif bozukluklara kadar birçok hastalığın patogeneğinde kritik rol oynar. TOS, özellikle spektrofotometrik yöntemler kullanılarak ölçülür; Erel tarafından geliştirilen renkimetri temelli otomatik yöntem günümüzde en sık tercih edilen tekniklerdendir. Ölçüm sonuçları genellikle μ mol H₂O₂ ekivalan/L cinsinden ifade edilir.

Klinik ve deneysel çalışmalarda TOS değerinin yüksek bulunması, artmış oksidatif hasarı ve inflamatuvar süreçlerin aktive olduğunu gösterir. Bu ölçüm, TAS ile birlikte değerlendirildiğinde, oksidatif denge hakkında daha kapsamlı bilgi sağlar. TOS düzeyinin belirlenmesi, hastalıkların seyrini izleme, tedavi yanıtlarını değerlendirme ve antioksidan tedavi stratejilerini optimize etme açısından önemli bir araçtır. Oksidatif stresin temel biyolojik etkilerini ve TOS ölçümlerinin klinik önemini anlamak, birçok hastalıkta yeni tanısal ve terapötik yaklaşımların geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.(Erel, 2005; Liguori et al., 2018; Sies, 2015)

Total Antioksidan Status (TAS): Hücresel ve doku düzeyinde serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesinde görev alan antioksidan savunma sistemlerinin toplam kapasitesini değerlendiren bir ölçüm parametresidir. Antioksidanlar, reaktif oksijen türleri gibi zararlı serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücresel yapıları korur. TAS düzeyi, organizmanın oksidatif stresle mücadele kapasitesini yansıtır. Özellikle Erel tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntem, TAS ölçümünde yaygın olarak kullanılmakta olup sonuçlar mmol Trolox ekivalan/L cinsinden ifade edilir. TAS ölçümü, oksidatif stresin neden olduğu

doku hasarının önlenmesinde veya mevcut antioksidan savunmanın yetersiz olduğu durumların belirlenmesinde kritik öneme sahiptir.

TAS seviyesinin düşüklüğü, antioksidan savunma mekanizmalarının zayıfladığını ve oksidatif hasarın artabileceğini gösterir. Bu nedenle TAS ölçümü, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar ve bazı kanser türleri gibi durumlarda hastalık prognozunun belirlenmesine yardımcı olur. TAS, genellikle TOS ile birlikte değerlendirilerek oksidatif denge hakkında daha kapsamlı bilgi sağlanır. Bu ölçümler sayesinde oksidatif stresin hem patofizyolojisi daha iyi anlaşılakta hem de yeni tedavi stratejileri geliştirilmesine olanak tanınmaktadır.(Erel, 2005)

Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF-alfa): Öncelikle monositler ve makrofajlar tarafından üretilen, proinflamatuvar özelliklere sahip bir sitokindir. TNF-alfa, konak savunmasında önemli bir rol oynamakla birlikte, aynı zamanda inflamatuvar, otoimmün ve dejeneratif süreçlerin de merkezinde yer alır. Hücre yüzeyindeki TNF reseptörlerine (TNFR1 ve TNFR2) bağlanarak NF-κB, mitojenle aktive edilen protein kinazlar (MAPK) ve apoptoz yollarını aktive eder. Bu yollar aracılığıyla hücre proliferasyonu, apoptoz, adezyon moleküllerinin ekspresyonu ve inflamatuvar mediatörlerin salınımını düzenler.

TNF-alfa düzeyinin artışı, romatoid artrit, inflamatuvar barsak hastalıkları, sepsis, multiple skleroz, Alzheimer hastalığı ve travmatik spinal kord hasarı gibi birçok patolojik durumla ilişkilendirilmiştir. Özellikle santral sinir sisteminde TNF-alfa hem nöroinflamasyonun tetiklenmesinde hem de sekonder hücresel hasarın ilerlemesinde önemli bir mediatör olarak rol oynar. TNF-alfa düzeylerinin ELISA gibi kantitatif yöntemlerle ölçülmesi, hastalıkların tanınmasında değerlendirilmesinde, prognoz takibinde ve anti-TNF tedavi yanıtlarının izlenmesinde önemli bir araçtır.(Balkwill, 2009; Bradley, 2008)

Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF-β1): Çok işlevli bir sitokin olup hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptozu, immün yanıtı ve ekstrasellüler matriks düzenlenmesini etkiler. TGF-β ailesinin bir üyesi olan bu molekül, birçok hücre tipi tarafından sentezlenir ve etkilerini Smad-bağımlı ya da Smad-bağımsız sinyal iletim yolları üzerinden gösterir. TGF-β1'in immünsüpresif etkileri sayesinde inflamasyonun baskılanmasında ve doku homeostazının korunmasında önemli rolü vardır. Bununla birlikte, bazı patolojik süreçlerde aşırı veya düzensiz aktivasyonu, fibrozis, tümör progresyonu ve bağ dokusu hastalıklarına neden olabilir.

Sinir sistemi bağlamında, TGF- β hem nöroprotektif hem de nöroinflamatuvar rollere sahiptir. Beyin ve omurilikte hasar sonrası mikrogliya ve astrositlerden salınan TGF- β 1, inflamasyonu sınırlayıcı etki göstererek sekonder hasarı azaltabilir. Ancak uzun dönemde aşırı ekspresyonu, gliyozis ve fibrozis gibi rejenerasyonu kısıtlayan durumlara katkıda bulunabilir. Ayrıca, spinal kord hasarı, multipl skleroz, Alzheimer hastalığı ve travmatik beyin hasarı gibi nörolojik durumlarda hem koruyucu hem de patojenik rolleri olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle TGF- β 1 hem potansiyel bir biyobelirteç hem de hedeflenebilir bir molekül olarak araştırmalarda önemini korumaktadır.(Meng et al., 2016; Moreau et al., 2022)

BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor): Merkezi ve periferik sinir sisteminde nöronların gelişimi, farklılaşması, yaşaması ve sinaptik plastisitenin sağlanmasında kritik rol oynayan bir nörotrofik faktördür. BDNF, özellikle hipokampus, korteks ve bazal forebrain gibi öğrenme, hafıza ve emosyonel düzenleme ile ilişkili beyin bölgelerinde yoğun olarak bulunur. BDNF, etkilerini başlıca tropomyosin receptor kinase B reseptörü üzerinden göstererek nöronal sağkalımı destekleyen PI3K/Akt, MAPK/ERK ve PLC- γ yollarını aktive eder. Bu molekülün sinaptik plastisite üzerindeki belirleyici etkisi nedeniyle, uzun süreli potansiyasyon ve öğrenme süreçlerinde merkezi rolü olduğu gösterilmiştir.(Binder & Scharfman, 2004)

BDNF düzeylerindeki azalma; Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, depresyon, şizofreni, multipl skleroz ve travmatik beyin hasarı gibi pek çok nörolojik ve psikiyatrik bozuklukta bildirilmiştir. Deneysel modellerde egzersiz, çevresel zenginleştirme, antidepresan tedaviler ve bazı nöroprotektif ajanların BDNF ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca BDNF, spinal kord hasarı sonrası rejeneratif süreçlerin desteklenmesinde ve sinir dokusunun yeniden yapılanmasında potansiyel bir hedef molekül olarak değerlendirilmektedir. Klinik ve prelinik araştırmalarda BDNF'nin hem tanısal biyobelirteç hem de tedavi hedefi olarak önemi giderek artmaktadır.(Lu et al., 2013)

Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B): Hücrel inflamasyon, immün yanıt, hücre proliferasyonu ve hayatta kalma gibi temel biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir transkripsiyon faktörüdür. NF- κ B, inaktif halde sitoplazmada inhibitör protein (I κ B) ile kompleks halinde bulunur. Hücre dışı uyarılar (sitokinler, enfeksiyöz ajanlar, oksidatif stres gibi) sonrasında I κ B'nin fosforilasyonu ve yıkımı gerçekleşir; böylece serbest kalan NF- κ B çekirdeğe taşınır ve burada hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır.

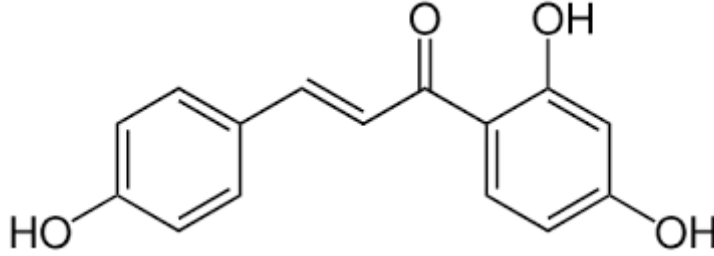
NF-κB, özellikle TNF-α ve IL-1β gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda merkezi bir düzenleyici rol üstlenir.(Kaltschmidt & Kaltschmidt, 2009a)

NF-κB'nin aşırı veya kronik aktivasyonu, romatoid artrit, inflamatuvar barsak hastalığı, kanser, ateroskleroz ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere birçok patolojik durumda önemli bir katkı sağlar. Spinal kord hasarı, iskemik beyin hasarı ve Alzheimer hastalığı gibi nörolojik bozukluklarda da NF-κB aktivitesinin artışı, inflamatuvar yanıtların şiddetlenmesine ve doku hasarının ilerlemesine neden olabilir. Bu nedenle NF-κB, antiinflamatuvar tedavi stratejilerinde önemli bir hedef olarak araştırılmaktadır. Ayrıca, NF-κB yollarının farmakolojik olarak modülasyonu, inflamasyona bağlı hasarın azaltılması açısından büyük bir potansiyel taşımaktadır.(Hayden & Ghosh, 2011)

Bununla birlikte, NF-κB aktivitesinin bağlam bağımlı olarak koruyucu ve düzenleyici etkiler gösterebileceği de bildirilmiştir. NF-κB, merkezi sinir sisteminde bağlama ve hücre tipine özgü olarak çeşitli roller üstlenen kritik bir transkripsiyon faktörüdür. Nöronlarda aktivasyonu, sinaptik plastisite ve öğrenme süreçlerini destekleyerek nöroprotektif etkiler sağlayabilirken; astrositlerde glutamat taşıyıcılarının düzenlenmesi yoluyla glutamat homeostazını korur. Mikroglialarda ise erken evrede inflamatuvar yanıtları tetiklerken, geç dönemde doku onarımı ve immün modülasyona katkıda bulunabilir. Bu bağlamda NF-κB'nin etkilerinin yalnızca inflamasyonu artırmakla sınırlı kalmadığı, aynı zamanda bağlam ve zamana bağlı olarak rejeneratif süreçleri de destekleyebileceği bildirilmektedir. (Dresselhaus & Meffert, 2019; Kaltschmidt & Kaltschmidt, 2009b)

2.6. Isoliquiritigenin

2.6.1. Isoliquiritigenin'in Moleküler Yapısı



Resim-4: Isoliquiritigenin' in moleküler yapısı (C₁₅H₁₂O₄)

Geçmişte meyan kökü üzerine yapılan araştırmalar büyük ölçüde glisirizin bileşiği üzerinde yoğunlaşmış olsa da son yıllarda meyan kökünde bulunan diğer biyoaktif bileşenler de çeşitli terapötik amaçlarla, özellikle nöroprotektif ve antikanser etkileri açısından yoğun şekilde araştırılmaktadır. Bu bileşenler arasında yer alan ISL, meyan kökü kaynaklı basit bir kalkan türevidir ve moleküler formülü C₁₅H₁₂O₄, moleküler ağırlığı ise 256.26'dır. ISL'nin IUPAC adı ise (E)-1-(2,4-dihidroksifenil)-3-(4-hidroksifenil) prop-2-en-1-on'dur. (L. Wang et al., 2015) Bu izoflavonoid bileşik; antiinflamatuvar, antiviral, antimikrobiyal, antioksidan, immünomodülatör, hepatoprotektif ve kardiyoprotektif gibi çok çeşitli farmakolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiş bir ajandır. (Nassiri Asl & Hosseinzadeh, 2008)

2.6.2. Isoliquiritigenin'in Biyokaktivitesi

2.6.2.1. Antiinflamatuvar Etkileri

ISL, başta endotelial hücrelerde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu baskılamak yoluyla olmak üzere güçlü antiinflamatuvar özellikler sergilemektedir. TNF- α ile aktive edilen hücrelerde NF- κ B'nin nükleer translokasyonunu ve I κ B α 'nın yıkımını inhibe ederek inflamatuvar sinyalleme azaltır. Ayrıca, IL-6 ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılar ve makrofaj fonksiyonlarını düzenleyerek bağışıklık yanıtını modüle eder. Th2 hücrelerinden salınan IL-4 ve IL-5'in inhibisyonu ile alerjik inflamasyonu da azaltabildiği gösterilmiştir. Bu özellikleriyle ISL, inflamatuvar hastalıklar ve astım gibi alerjik durumlar için potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilmektedir. (H. Kwon et al., n.d.; W. Li et al., 2014; H. Zhao et al., 2014)

2.6.2.2. Antimikrobiyal Aktivitesi

ISL, hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif mikroorganizmalara karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal etki göstermektedir. Özellikle Mycobacterium tuberculosis'te yağ asidi sentez yoluna müdahale ederek çoğalmayı baskılamaktadır. Diş eti hastalıklarında rol alan anaerob bakteriler üzerinde de belirgin inhibisyon sağlamaktadır. S. aureus ve S. mutans gibi klinik olarak önemli bakterilere karşı oldukça düşük minimum bakterisidal konsantrasyonlarla etkilidir. Aynı zamanda influenza ve hepatit C virüslerine karşı da antiviral etki gösterdiği, bu virüslerin replikasyonunu anlamlı düzeyde baskıladığı saptanmıştır.(Brown et al., 2007; Oldoni et al., 2011; X. Zhao et al., 2011)

2.6.2.3. Antidiyabetik Etkileri

ISL, diyabetik komplikasyonların önlenmesinde etkili olabilecek çeşitli biyokimyasal yolları hedef almaktadır. Aldoz redüktazı inhibe ederek hiperglisemiye bağlı ozmotik stresin önüne geçer. Mezangial hücrelerde yüksek glikozla indüklenen fibrozisi ve TGF- β aracılı Smad sinyallemesini baskılayarak diyabetik nefropati gelişimini engeller. Ayrıca, diyabetik hastalarda azalmış olan prostasiklin sentezini artırarak vasküler fonksiyonları destekler. Tip 2 diyabette α -glukozidaz enzim aktivitesini inhibe ederek glukoz Emilimini düzenleyici etki göstermektedir.(Lee et al., 2010; C. Zhao et al., 2013)

2.6.2.4. İmmünmodülatör Özellikleri

ISL, çeşitli deneysel modellerde nöroprotektif etkilere sahip olduğu gösterilmiş doğal bir flavonoiddir. Alzheimer hastalığı modelinde ISL, BV2 mikroglialarda amiloid- β 'ye bağlı inflamatuvar yanıtı baskılamış; IL-1 β , IL-6 ve TNF- α üretimini azaltarak NF- κ B yolunu inhibe etmiş ve Nrf2'yi aktive etmiştir. Bu etkiler, nöronların sitotoksik ortamlara karşı korunmasını sağlamıştır.(Fu & Jia, 2021)

Epileptik nöbet modeli olarak kullanılan kainik asit uygulamasında, ISL nörokognitif fonksiyonları korumuş, nöronal hasarı azaltmış ve Nrf2/HO-1/NQO1 yolunu aktive ederek inflamasyonu hafifletmiştir. Aynı zamanda NLRP3 inflammasom aktivasyonu ve kaspaz-1 ekspresyonunu da inhibe etmiştir.(Zhu et al., 2019)

Glutamat eksitotoksitesine karşı ISL, mitokondriyal membran potansiyel kaybını önlemiş ve nöronal enerji metabolizmasını desteklemiştir. Bu etkiler ISL'nin oksidatif stres kaynaklı nöronal hasara karşı koruyucu olduğunu göstermektedir.(Zgodova et al., 2022)

İntraserebral hemoraji modelinde ISL, erken beyin hasarını azaltarak nörolojik düzelmeyi desteklemiş, kan-beyin bariyeri bütünlüğünü korumuş ve inflamatuvar yanıtı baskılamıştır. Nrf2'nin aktivasyonu ve NF-κB/NLRP3 yollarının inhibisyonu bu koruyucu etkiye katkı sağlamıştır.(Zeng et al., 2017) Ayrıca ISL'nin, monoamin oksidaz-B enzimini seçici olarak inhibe ettiği ve bu yolla Parkinson hastalığı gibi dopaminergik dejenerasyonla seyreden hastalıklarda potansiyel fayda sağlayabileceği öne sürülmüştür.(Prajapati et al., 2021)

2.6.2.5 Anti-anjiogenik Etkisi

ISL, anjiyogenez sürecini çeşitli düzeylerde inhibe ederek damar oluşumunu baskılayan bir bileşik olarak öne çıkmaktadır. VEGF ile indüklenen damar oluşumunu inhibe ederken, aynı zamanda pigment epitel türevli faktör gibi anti-anjiogenik proteinlerin ekspresyonunu artırır. HUVEC hücrelerinde yapılan çalışmalarda hücre göçü, invazyonu ve tüp formasyonu gibi anjiyogeneze özgü işlevleri engellediği gösterilmiştir. Ayrıca, PMA ile uyarılmış MMP (matriks metalloproteinaz) üretimini de baskılayarak yeni damar gelişimini önler. Topikal uygulamalarda korneal neovaskülarizasyona karşı da etkili olduğu bildirilmiştir.(Jhanji et al., 2011; Z. Wang et al., 2013)

2.6.2.6 Kanser Üzerindeki Potansiyel Etkisi

ISL, birçok kanser türünde hücre proliferasyonunu baskılayarak tümör gelişimini önleyici etki göstermektedir. Servikal, meme, kolon ve prostat kanserlerinde apoptoz indüksiyonu ve reaktif oksijen türleri üretimini artırarak tümör hücrelerini hedef alır. Prostat kanser hücrelerinde mitokondriyal membran potansiyelini düşürerek sitotoksosite sağlar ve normal hücreleri etkilemeden seçici etki gösterir. Ayrıca, ISL'nin kolon kanseri hücrelerinde NAG-1 proteinini Egr-1 aracılığıyla indükleyerek tümör baskılayıcı sinyalleme aktif ettiği gösterilmiştir. mTOR-VEGF yolunun inhibisyonu ile anjiogenezi baskılaması, antikanser etkinliğini destekleyen bir başka mekanizmadır.(Auyeung & Ko, 2010; Sun et al., 2010; Yuan et al., 2012)

2.6.2.7 Antioksidan ve Faz II Enzimler Üzerindeki Etkisi

ISL, güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olup, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif türleri etkisiz hale getirebilir. Bu etkiler, başta süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin aktivitesinin desteklenmesiyle ortaya çıkar. ISL ayrıca mitokondriyal membran potansiyelini koruyarak oksidatif strese karşı nöroprotektif etki gösterir. NQO1'in indüksiyonu, Keap1-Nrf2 yolu üzerinden

antioksidan yanıt elementlerini aktive ederek hücrel detoksifikasyona katkı sağlar. ISL'nin faz I enzimleri indüklememesi ise seçici ve güvenli bir ajan olmasını destekler.(Cuendet et al., 2006; Shi et al., 2020)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu proje, 15/09/2023 tarih ve 2023-045 karar numaralı Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Uygulama ve Merkezi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurul onayı ve 23TU18029 proje numaralı Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün desteği alınıp, Haziran 2024'te Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde uygulanmıştır.

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

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

Grup-1 (n:9) Ratlara deneyin 0.,1.,3. ve 7. günlerinde BBB ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. 7.günde ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral paraspinal adeleler laretalize edilip laminalar görüldü. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. T7-9 arası spinal kord eksize edildikten sonra intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan numunesi biyokimyasal incelemede kullanıldı. Çıkarılan spinal kord horizontal olarak eksize edildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içine konularak histopatolojik incelemeye yollandı. Diğer yarısı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 santigrad derecede saklandı.

Grup-2 (n:9) Ratlara deneyin 0.,1.,3. ve 7. günlerinde BBB ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. Deneyin 1. Gününde ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral spinal paraspinal laretalize edilip laminalar görüldü. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. Herhangi bir travmatik spinal kord hasarı yapılmadan cerrahi stress uygulanarak katmanlar anatomik planda kapatılıp sütürüze edildi.

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

Grup-3 (n:9) Ratlara deneyin 0.,1.,3. ve 7. günlerinde BBB ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. Deneyin 1. Gününde ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral spinal paraspinal laretalize edilip laminalar görüldü. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. Ardından yüksekliği 5 cm ve çapı 10 mm olan metal tüp yerleştirilerek tüpün içinden ağırlığı 5 g, çapı 9 mm olan titanyum çubuk bırakılarak spinal (Modifiye Allen Ağırlık Düşürme Metodu ile) kord travması oluşturuldu. İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Ratlar supin pozisyona getirilerek intraperitoneal yolla 0,25ml (1ml/kg) DMSO (dimethyl sulfoxide) spinal hasar sonrası 30. dk 12. saat ve 48. saatinde olmak üzere 3 doz uygulandı. 7. gün sonunda ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildi. Hemen arkasından ipek sütürler alınarak T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan numunesi biyokimyasal incelemede kullanıldı. Çıkarılan hasarlı spinal kord horizontal olarak eksize edildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içine konularak histopatolojik incelemeye yollandı. Diğer yarısı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecede saklandı.

Grup-4 (n:9) Ratlara deneyin 0.,1.,3. ve 7. günlerinde BBB ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. Deneyin 1. gününde ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral spinal paraspinal laretalize edilip laminalar görüldü. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. Ardından Modifiye Allen Ağırlık Düşürme Metodu ile spinal kord travması oluşturuldu. İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Ratlar supin pozisyona getirilerek intraperitoneal yolla 20mg/kg/doz, spinal hasar sonrası 30. dk 12. saat ve 48. saatinde olmak üzere 3 doz uygulandı. 7. gün sonunda ratlar

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

Grup-5 (n:9) Ratlara deneyin 0.,1.,3. ve 7. günlerinde BBB ve Modifiye Tarlov testleri uygulandı. Deneyin 1. gününde ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildikten sonra prone pozisyona getirilip saha temizliğinin ardından batikon ile T5-12 arası sterilize edildi. 15 numara bistüri yardımıyla T5-12 arası median vertikal insizyon ile cilt ciltaltı geçilerek bilateral spinal paraspinal laretalize edilip laminalar görüldü. Bistüri yardımıyla T7-9 total laminektomi uygulandı. Ardından Modifiye Allen Ağırlık Düşürme Metodu ile spinal kord travması oluşturuldu. İpek sütürler ile cilt kapatıldı. Ratlar supin pozisyona getirilerek intraperitoneal yolla 40mg/kg/doz, spinal hasar sonrası 30. dk 12. saat ve 48. saatinde olmak üzere 3 doz uygulandı. 7. gün sonunda ratlar intramusküler 10mg/kg xylazin ve 60 mg/kg ketamin ile sedatize edildi. Hemen arkasından ipek sütüleri alınarak T7-9 arası kord eksize edildi ve intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan numunesi biyokimyasal incelemede kullanıldı. Çıkarılan hasarlı spinal kord horizontal olarak eksize edildi. Kordun bir yarısı %10 luk formaldehid içine konularak histopatolojik incelemeye yollandı. Diğer yarısı biyokimyasal inceleme için SF içinde -80 derecede saklandı.

Tedavi gruplarında kullanılan ISL dozları (20 mg/kg ve 40 mg/kg) ile uygulama sıklığı, literatürde daha önce merkezi sinir sistemi hasarı modellerinde etkinliği gösterilmiş protokollere dayanmaktadır. İntraserebral hemoraji modelinde 20 mg/kg ve 40 mg/kg ISL'yi üç doz halinde uygulamış ve her iki dozda da nöroprotektif etkilerin yanı sıra ödem ve nöronal hasarda anlamlı azalma elde edildiğini bildirmiştir.(Zeng et al., 2017) Benzer şekilde, travmatik beyin hasarı modelinde 20 mg/kg ISL'nin üç kez uygulanmasıyla mikroglial aktivasyonun baskılandığını ve proinflamatuvar sitokin düzeylerinin anlamlı şekilde azaldığını rapor etmiştir.(Liu et al., 2019) Bu veriler doğrultusunda çalışmamızda da hem düşük hem yüksek doz ISL'nin, belirlenen zamanlamayla üç doz halinde uygulanması tercih edilmiştir.

Ratlardan elde edilen hasarlı medulla spinalis dokusu ve kan serum örneklerinde TNF-alfa (tümör nekroz faktör alfa), TGF-Beta 1 (transforming growth factor beta), BDNF (brain derived neurotrophic factor), NF-kB (nükleer faktör kabba B) seviyeleri enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle ve TAS (total antioksidan status), TOS (total oksidatif stres) spektrofotometrik yöntemle Tıbbi Biyokimya AD araştırma laboratuvarında ölçülecektir.

Ratlardan elde edilen spinal kord kesitleri 2 gün %10'luk formaldehitte tespit edildi. NEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D laboratuvarında rutin histolojik takip sonrası parafine gömüldü ve 4 mikronluk kesitler alındı. Bu spinal kord kesitleri hematoksilin eozin boyası kullanılarak histoloji laboratuvarında ışık mikroskobu altında incelendi. Spinal kordun tüm örneklerinde, histopatolojik değişikliklerin sınıflandırılmasında 0 ve 3 arasında değişen skorlama sistemi kullanıldı. 5 farklı parametre (hemoraji, ödem, aksonal dejenerasyon, vakuolizasyon ve Nöron nekrozu) değerlendirildi ve skorlandı.

Apoptotik hücreler, bir ApopTag In Situ Apoptoz Tespit Kiti (Millipore) kullanılarak etiketlendi. DNA fragmanları terminal deoksinükleotidil transferazın etkisiyle modifiye edildi. Tüm prosedürler üreticinin talimatlarını izledi. TUNEL pozitif ve toplam hücreler gri maddede 4 mikronluk kesitlerde 20'lik objektifde sayıldı ve yüzdeleri alındı.

TUNEL pozitif hücre sayısı ve histopatolojik skor TUKEY testi ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak karşılaştırıldı.

3.1. Basso Beattie and Bresnahan Testi ve Modifiye Tarlov Skalası

TMSH oluşturulan rat modellerinde motor fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi amacıyla BBB Lokomotor Skorlama Sistemi ve Modifiye Tarlov Skorlama Sistemi davranışsal test yöntemleri kullanılmıştır: BBB ölçeği, 21 puan üzerinden yapılan ve arka ekstremitte motor fonksiyonlarının ayrıntılı biçimde analizine olanak sağlayan, spinal kontüzyon modelleri için geliştirilmiş altın standart bir değerlendirme yöntemidir. BBB testi, postural destek, eklem hareketliliği, adım koordinasyonu ve pençe pozisyonu gibi bir dizi parametreyi içermesi sayesinde motor iyileşmeyi kademeli olarak gözlemlemeye olanak tanır. Yüksek tekrarlanabilirlik ve duyarlılığa sahip olması nedeniyle, nöroprotektif ve rejeneratif tedavi çalışmalarında sıkça tercih edilmektedir.(Scheff et al., 2002; Song et al., 2016)

Modifiye Tarlov skoru ise daha basit bir ölçek olmasına rağmen, kaba motor fonksiyonun hızlı ve güvenilir şekilde değerlendirilmesini sağlar. 0'dan 5'e kadar derecelendirilen bu test, özellikle tedavi gruplarının karşılaştırılmasında genel fonksiyonel farklılıkların belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.(Xing et al., 2025)

Puan	Klinik Muayene
0	Gözlenebilir arka bacak (HL) hareketi yok
1	Genellikle kalça ve/veya diz olmak üzere bir veya iki eklemin hafif hareketi
2	Bir eklemin geniş hareketi veya bir eklemin geniş hareketi ve diğer bir eklemin hafif hareketi
3	İki eklemin kapsamlı hareketi
4	HL'nin üç ekleminin de hafif hareketi
5	İki eklemin hafif hareketi ve üçüncü eklemin geniş hareketi
6	İki eklemin geniş hareketi ve üçüncü eklemin hafif hareketi
7	HL'nin üç ekleminin tamamının kapsamlı hareketi
8	Ağırlık desteği olmadan süpürme veya ağırlık desteği olmadan pençenin plantar yerleşimi
9	Sadece duruşta ağırlık desteği ile patinin plantar yerleşimi (yani sabitken) veya ara sıra, sık veya tutarlı ağırlık destekli dorsal adımlama ve plantar adımlama yok
10	Ara sıra ağırlık destekli plantar adımlar, ön ayak yok (FL)-HL koordinasyonu
11	Sık ve tutarlı ağırlık destekli plantar adımlar ve FL-HL koordinasyonu yok
12	Sık ila tutarlı ağırlık destekli plantar adımlar ve ara sıra FL-HL koordinasyonu
13	Sık ila tutarlı ağırlık destekli plantar adımlar ve sık FL-HL koordinasyonu
14	Tutarlı ağırlık destekli plantar adımlar, tutarlı FL-HL koordinasyonu ve hareket sırasında baskın pençe pozisyonu, hareket ettiğinde (içten veya dıştan) döndürülür. yüzeyle ilk temas ve duruşun sonunda kaldırılmadan hemen önce

	veya sık plantar adımlama, tutarlı FL-HL koordinasyonu ve ara sıra dorsal adım atma
15	Tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu ve ön uzuv ilerlemesi sırasında parmak açıklığı veya ara sıra parmak açıklığı yok; Baskın pençe pozisyonu, ilk temasta vücuda paraleldir
16	Yürüyüş sırasında tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu ve ayak parmağı açıklığı, ön uzuv ilerlemesi sırasında sıklıkla meydana gelir; Baskın pençe konumu, ilk temasta paraleldir ve kalkışta döndürülür
17	Yürüyüş sırasında tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu ve ayak parmağı açıklığı, ön uzuv ilerlemesi sırasında sıklıkla meydana gelir; Baskın pençe pozisyonu ilk temasta paraleldir ve kalkar
18	Yürüyüş sırasında tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu ve ayak parmağı açıklığı, ileri uzuv ilerlemesi sırasında tutarlı bir şekilde meydana gelir; Baskın pençe konumu, ilk temasta paraleldir ve kalkışta döndürülür
19	Yürüyüş sırasında tutarlı plantar adım ve tutarlı FL-HL koordinasyonu ve ayak parmağı açıklığı, ileri uzuv ilerlemesi sırasında tutarlı bir şekilde meydana gelir; baskın pençe konumu, ilk temasta paraleldir ve kalkar ve kuyruk kısmen veya her zaman aşağı
20	Tutarlı plantar adım ve tutarlı koordineli yürüyüş; tutarlı ayak açıklığı; baskın pençe konumu, ilk temasta paraleldir ve kalkar; kuyruk sürekli yukarı ve gövde kararsızlığı
21	Tutarlı plantar adım ve koordineli yürüyüş, tutarlı parmak açıklığı, baskın pençe pozisyon duruş boyunca paralel, tutarlı gövde dengesi, kuyruk sürekli yukarı

Tablo-1: *Basso Beattie and Bresnahan (BBB) Testi (Basso et al., 1995)*

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

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

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

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

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

Tablo-2: Modifiye Tarlov Skalası

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

3.2. İstatiksel Analiz

Serum BDNF, NFKB, TNF-A ve TAS normal dağılıma uyduğu için One Way Anova Testi yapıldı. Post Hoc Test olarak Tukey's Multiple Comparisons Test'i yapıldı. Serum TGF-1B ve TOS normal dağılıma uymadığı için Kruskal-Wallis Testi yapıldı.

Dokuda incelenen tüm parametreler normal dağılıma uyduğu için One Way Anova Testi yapıldı. Post Hoc Test olarak Tukey's Multiple Comparisons Test'i yapıldı.

BBB Testi ve Modifiye Tarlov testinde gruplar içi zaman analizi için istatistiksel yöntem olarak Multiple T Test yöntemi, deney sonu gruplar arası karşılaştırma için One-Way anova analizi kullanıldı.

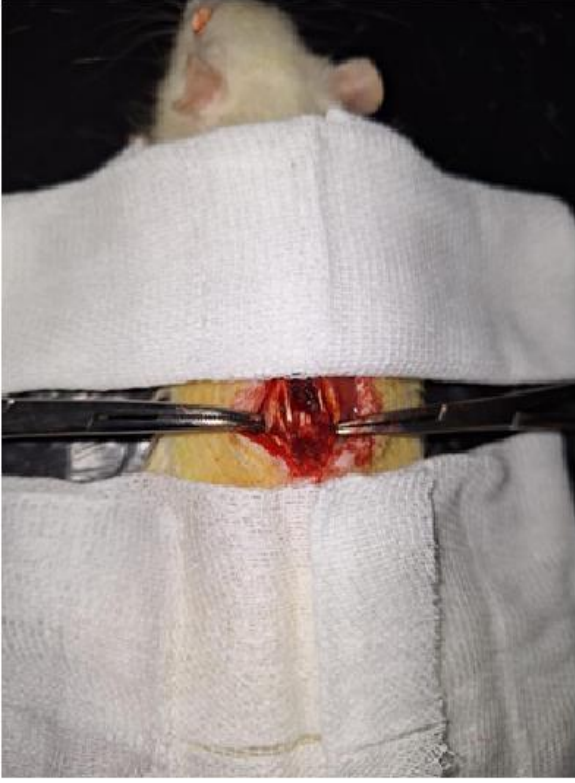
* işareti Grup 1(intakt kontrol grubu) ile karşılaşmayı göstermektedir. # işareti Grup 3 (spinal hasar+DMSO) ile karşılaşmayı göstermektedir

* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

3.3. Deneysel Medulla Spinalis Hasarı Modelinde Cerrahi Uygulama Aşamaları



Resim-5: Median vertikal insizyon ve bilateral spinal adalelerin diseke edilmesi



Resim-6: T7 total laminektomi



Resim-7: Titanyum çubuk kullanılarak spinal kord travması



Resim-8: İpek sütürler ile cildin kapatılması

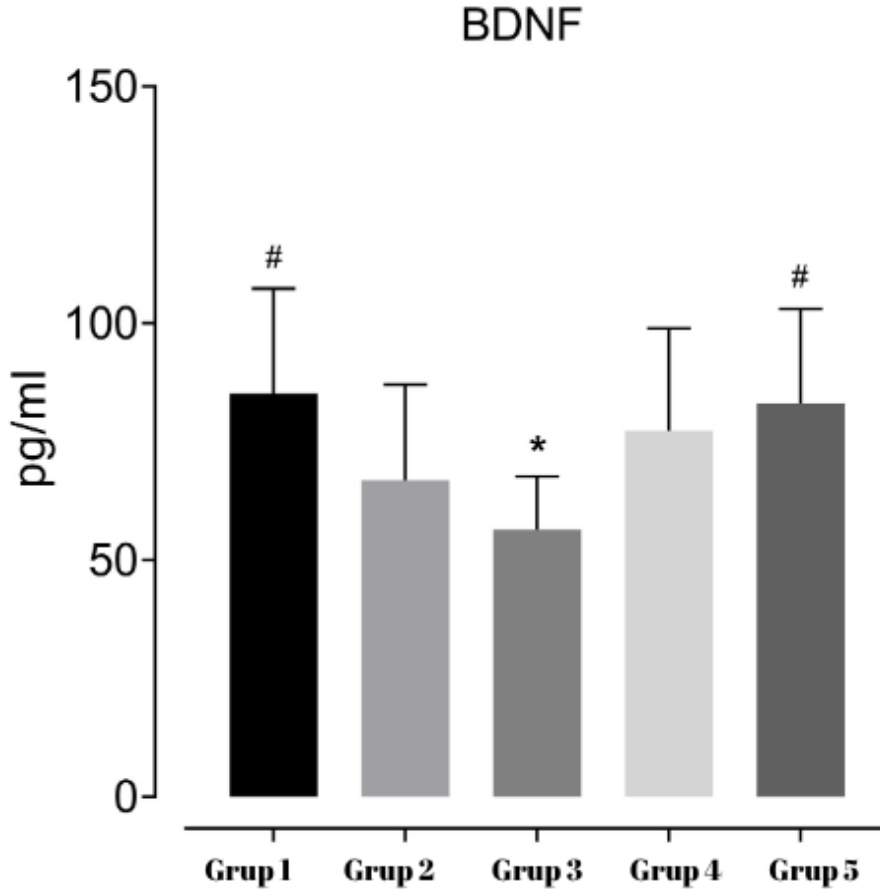
4. BULGULAR

4.1. Serum Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi

Grup	Sıra	BDNF pg/mL	NF-kB pg/mL	TGF-B1 pg/mL	TNF-A pg/mL	TOS µmol H2O2 Equivalent/L	TAS mmol Trolox Equivalent/L
1	1	75,7	521	37,7	58,6	32,1	1,04
1	2	119,0	382	28,7	28,3	35,2	0,96
1	3	68,5	473	40,7	38,6	37,1	1,07
1	4	82,6	396	32,8	29,1	31,7	1,17
1	5	63,6	629	64,1	40,6	29,6	1,09
1	6	120,4	553	32,6	25,1	30,1	1,39
1	7	96,8	360	29,8	39,9	32,5	1,16
1	8	77,1	339	25,2	24,4	36,1	1,27
1	9	62,4	540	32,5	33,3	34,2	1,25
2	1	71,2	369	20,3	21,8	41,8	1,00
2	2	98,0	434	21,8	55,8	38,2	1,18
2	3	67,1	498	15,8	29,4	41,4	1,11
2	4	96,5	349	20,7	58,0	36,0	1,04
2	5	72,1	284	18,8	49,9	40,7	1,01
2	6	52,0	310	17,4	64,4	41,2	0,98
2	7	40,6	414	19,3	46,8	24,1	0,96
2	8	55,0	368	22,4	35,5	40,3	1,06
2	9	49,5	398	13,1	24,7	41,5	0,91
3	1	65,5	369	16,4	59,5	42,8	1,09
3	2	53,8	473	11,0	27,3	44,0	1,04
3	3	68,4	364	19,9	61,3	47,3	1,09
3	4	62,1	434	13,1	33,9	40,8	0,85
3	5	54,5	403	20,1	50,9	38,6	0,91
3	6	35,2	296	16,2	65,1	40,3	0,84
3	7	69,4	335	25,9	49,5	38,9	0,74
3	8	46,6	375	14,1	40,8	39,1	1,22
3	9	52,5	274	26,5	41,5	38,4	1,16
4	1	96,7	234	39,2	45,2	36,8	0,98
4	2	65,2	641	36,9	23,5	36,5	1,05
4	3	78,1	349	27,6	39,2	33,3	1,49
4	4	58,2	659	46,3	34,4	35,7	1,00
4	5	93,8	358	28,8	44,3	36,5	1,22
4	6	76,2	687	61,9	37,7	40,0	0,92
4	7	77,3	418	41,6	40,4	31,4	1,16
4	8	39,4	491	35,9	24,0	33,5	1,18
4	9	111,0	208	26,1	40,8	37,9	1,20
5	1	82,5	489	46,7	30,6	28,5	1,47
5	2	54,2	225	28,7	46,4	34,1	1,13
5	3	95,4	634	55,5	40,2	35,5	1,32
5	4	64,9	376	33,5	49,9	36,7	1,21
5	5	91,1	604	64,0	34,3	45,6	1,32
5	6	58,5	355	31,4	39,0	31,8	1,15
5	7	110,4	644	71,6	25,1	31,0	1,26
5	8	86,9	414	56,0	43,5	31,3	0,99
5	9	103,8	530	51,0	30,7	33,8	1,18

Tablo-3: Serum Biyokimya Verileri

4.1.1 Serum BDNF Düzeyleri



Grafik-1: Serum biyokimya verilerinde grup içi BDNF değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

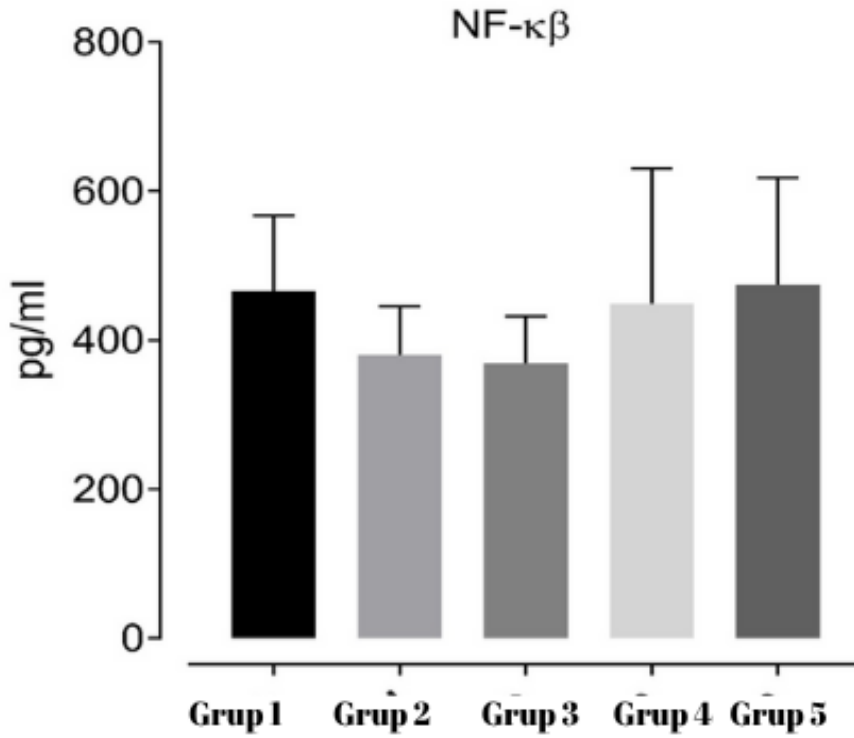
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

Serum BDNF düzeyleri grup 3'teki ratlarda, grup 1'e göre anlamlı düzeyde azalmıştır (p<0,05). Grup 5'te BDNF düzeyi, grup 3'e kıyasla anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. (p<0,05). Grup 4'te de artış izlenmiş, ancak istatistiksel olarak Grup 5 kadar belirgin olmamıştır.

Tablo-4 : Grupların BDNF Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P
Arit. ort. ± SS	Arit.ort. ± SS	Arit. ort. ± SS	Arit.ort. ± SS	Arit. ort. ± SS	
85.12 ± 22.20 #	65.41 ± 20.61	57.71 ± 11.48 *	77.32 ± 21.60	83.08 ± 19.92 #	<0,05

4.1.2 Serum NF-κB Düzeyleri



Grafik-2: Serum biyokimya verilerinde grup içi NF-κB değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

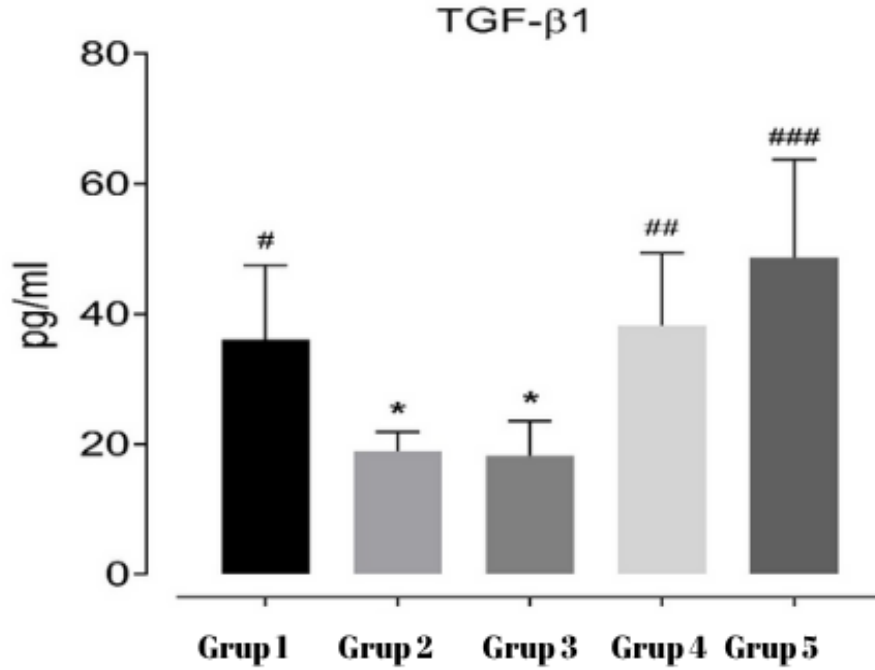
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

Serum NF-κB düzeyleri açısından gruplar arasında belirgin bir fark gözlenmemektedir. NF-κB düzeyleri özellikle Grup 2 ve Grup 3'te düşüş eğilimindeyken, Grup 5'te yeniden artış göstermektedir. Ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildir. (p>0,05)

Tablo-5: Grupların NF-κB Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P
Arit. ort. ±SS	Arit. Ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	
461.89±99.84	389.78±65.81	369.22±63.02	449.44±181.29	474.56±143.23	>0,05

4.1.3 Serum TGF- β 1 Düzeyleri



Grafik-3: Serum biyokimya verilerinde grup içi TGF- β 1 değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

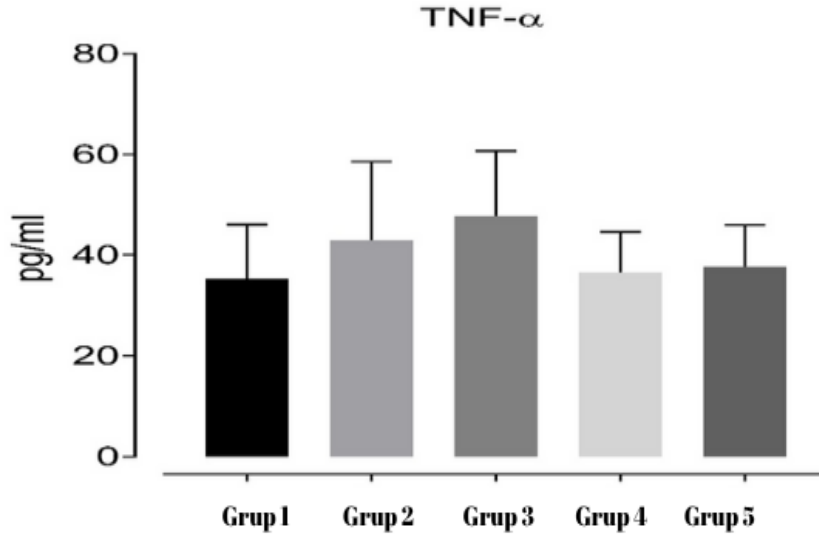
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

Serum TGF- β 1 düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. (p<0,05) Grup 2 ve Grup 3 gruplarda TGF- β 1 düzeyleri, Grup 1'e kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır (p<0,05). Buna karşın Grup 4 ve Grup 5, TGF- β 1 düzeylerinde Grup 3'e göre anlamlı artışlar izlenmiştir. (p<0,01, p<0,001)

Tablo-6: Grupların TGF- β 1 Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9) Arit.ort. \pm SS	Grup 2 (n=9) Arit.ort. \pm SS	Grup 3 (n=9) Arit.ort. \pm SS	Grup 4 (n=9) Arit.ort. \pm SS	Grup 5 (n=9) Arit.ort. \pm SS	P
33.66 \pm 13.47 #	18.90 \pm 3.02 *	19.24 \pm 5.99 *	38.66 \pm 11.12 ##	48.71 \pm 14.99 ###	<0,05

4.1.4 Serum TNF- α Düzeyleri



Grafik-4: Serum biyokimya verilerinde grup içi TNF- α değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

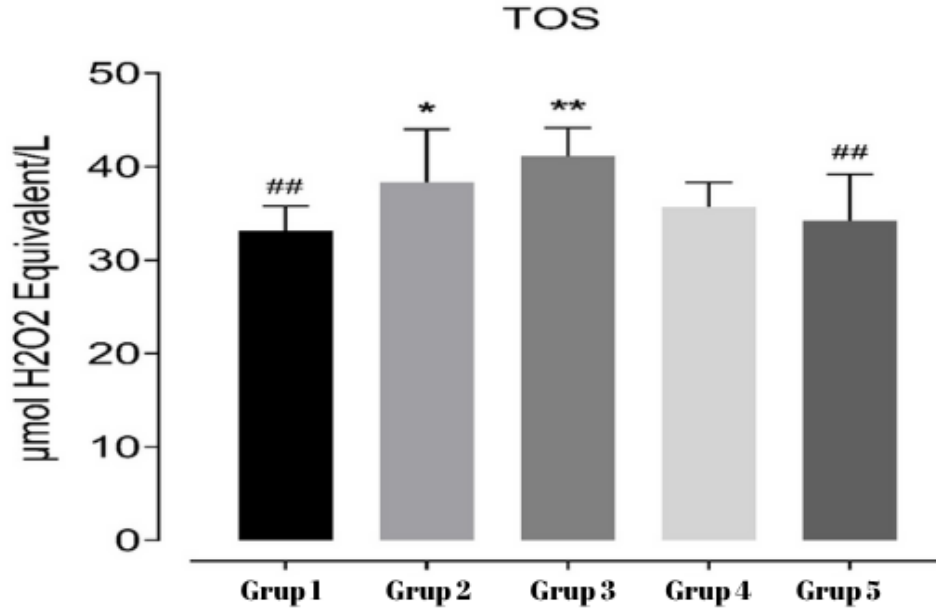
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

Serum TNF- α düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir ($p>0,05$). Travma sonrası TNF- α düzeylerinde artış gözlenmiş olsa da bu artış gruplar arasında anlamlı bir farklılık oluşturacak düzeyde olmamıştır. ISL uygulanan Grup 4 ve Grup 5'te TNF- α düzeylerinde hafif azalma eğilimi gösterse de istatistiksel olarak anlamlı şekilde değiştirmemiştir.

Tablo-7: Grupların TNF- α Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9) Arit.ort. \pm SS	Grup 2 (n=9) Arit.ort. \pm SS	Grup 3 (n=9) Arit.ort. \pm SS	Grup 4 (n=9) Arit.ort. \pm SS	Grup 5 (n=9) Arit.ort. \pm SS	P
39.69 \pm 13.63	40.28 \pm 13.30	45.13 \pm 11.09	36.61 \pm 7.97	37.74 \pm 8.18	>0,05

4.1.5 Serum TOS Düzeyleri



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

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

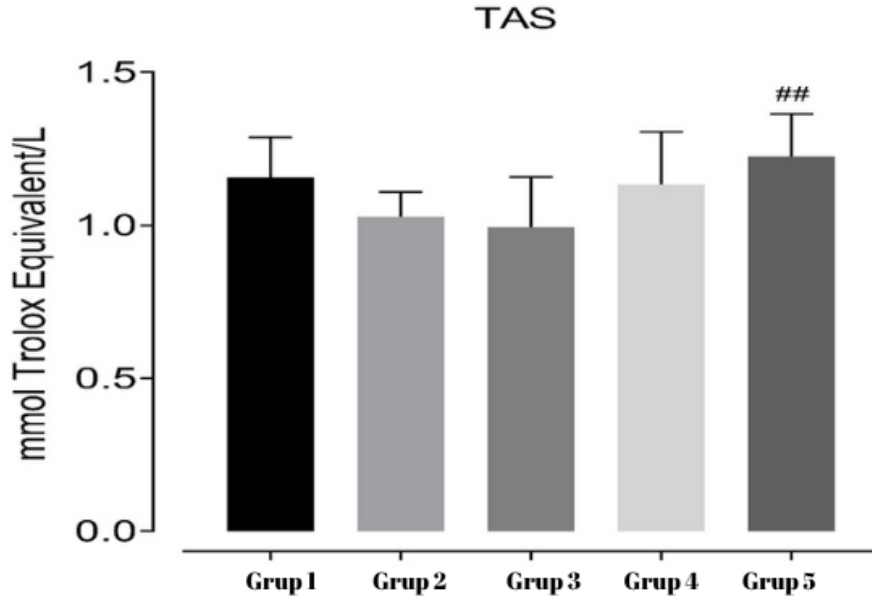
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

Serum TOS düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. ($p < 0,05$) Grup 2 ve Grup 3, Grup 1'e kıyasla anlamlı derecede TOS düzeylerinde artış gözlenmiştir. ($p < 0,05$, $p < 0,01$) Yüksek doz ISL uygulanan Grup 5'te bu oksidatif yük Grup 3'e göre belirgin olarak azalmıştır. ($p < 0,01$)

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

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P
Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	
36.57±5.46 ###	39.31±6.41 *	36.10±5.31 **	36.16±3.03 ###	34.23±4.95 ##	<0,05

4.1.6 Serum TAS Düzeyleri



Grafik-6: Serum biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

Serum TAS düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0.05$). Grup 2 ve Grup 3'te serum TAS düzeyleri Grup 1'e kıyasla hafif azalmış, ancak anlamlı bulunmamıştır. ISL uygulanan gruplarda, özellikle yüksek doz uygulanan Grup 5'te anlamlı düzeyde artış gözlenmiştir. ($p < 0.01$).

Tablo-9: Grupların Tas Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P
Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	
1.08 \pm 0.09	1.03 \pm 0.08	0.99 \pm 0.16	1.13 \pm 0.17	1.23 \pm 0.14 ##	<0,05

4.1.7 Serum Biyokimyasal Verilerin Analizi

Çalışmada elde edilen serum biyokimyasal parametreler, TMSH'nin biyokimyasal etkilerini ve ISL uygulamasının bu etkiler üzerindeki düzenleyici rolünü değerlendirmek amacıyla analiz edilmiştir. Parametrelerin dağılım özelliklerine göre istatistiksel analizler gerçekleştirilmiş; normal dağılım gösteren veriler için One-Way ANOVA ve Tukey's post-hoc testi, normal dağılım göstermeyen veriler için ise Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Anlamlı farklar; * işareti Grup 1 (İntakt Kontrol Grubu) ile karşılaştırmaları, # işareti ise Grup 3 (travma + DMSO) ile karşılaştırmaları göstermektedir (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, # $p<0.05$, ## $p<0.01$, ### $p<0.001$).

BDNF düzeyleri, Grup 3'te travma sonrası anlamlı şekilde azalmış olup ($p<0.05$), Grup 5'te Grup 3'e kıyasla anlamlı düzeyde artış sergilemiştir ($p<0.05$). Grup 4'teki artış anlamlılık sınırında kalmış, ancak Grup 5 kadar belirgin olmamıştır.

NF- κ B düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). Travma sonrası inflamatuvar yanıtı temsil eden bu parametre, Grup 2 ve 3'te hafif düşüş, Grup 5'te ise artış göstermiş olsa da bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

TGF- β 1 düzeyleri nonparametrik analiz sonuçlarına göre gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0.05$). Sadece laminektomi uygulanan Grup 2 ile spinal hasar ve DMSO uygulanan Grup 3'te belirgin şekilde düşen TGF- β 1 düzeyleri, ISL uygulanan gruplarda özellikle yüksek doz ISL uygulanan Grup 5'te anlamlı derecede artmıştır ($p<0.01$, $p<0.001$).

TNF- α düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p>0.05$). Her ne kadar travmayı takiben artış eğilimi görülse de ISL uygulaması bu değeri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürmemiştir.

TOS düzeyleri, travma sonrası oksidatif stresin göstergesi olarak Grup 2 ve Grup 3'te anlamlı şekilde artmıştır ($p<0.05$, $p<0.01$). Grup 5'te, bu artışa kıyasla anlamlı azalma saptanmıştır ($p<0.01$).

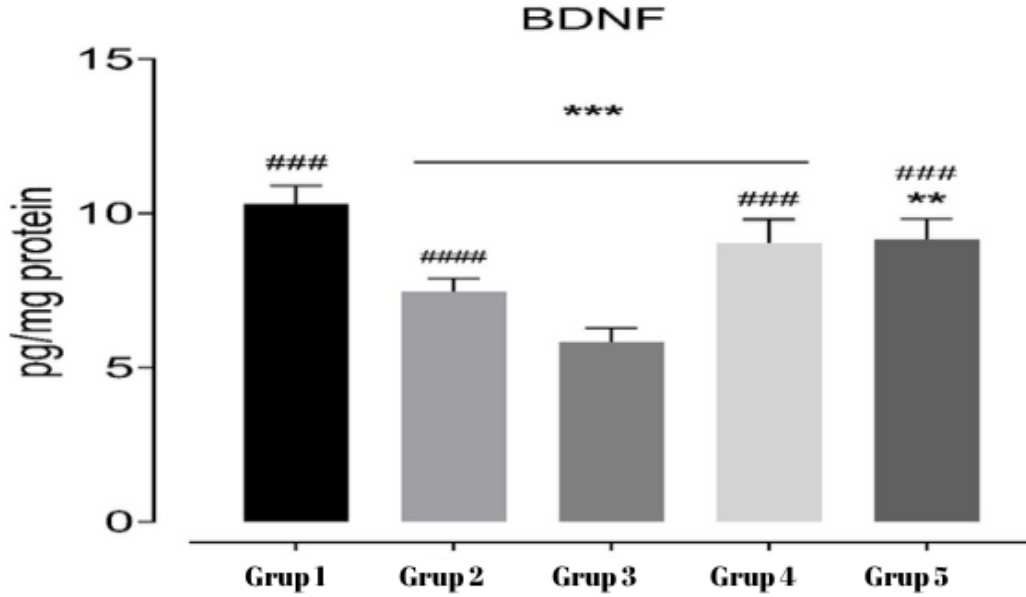
TAS düzeyleri değerlendirildiğinde, Grup 2 ve Grup 3'te azalma eğilimi gösterdiği; ISL uygulaması ile, özellikle yüksek uygulanan Grup 5'te anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir ($p<0.01$).

4.2. Doku Biyokimya Verileri ve İstatistiksel Analizi

Grup	Sıra	BDNF	NF-kB	TGF-B1	TNF-A	TOS	TAS
		pg/mg protein	pg/mg protein	pg/mg protein	pg/mg protein	µmol H2O2 Equivalent/mg protein	mmol Trolox Equivalent/mg protein
1	1	10,8	101	3,46	4,58	44,0	1,20
1	2	9,3	105	3,02	4,33	38,8	1,25
1	3	10,1	103	3,17	3,73	47,9	1,31
1	4	9,7	97	2,85	4,13	48,3	1,36
1	5	10,4	101	3,28	4,33	43,1	1,41
1	6	10,8	93	2,79	3,69	50,0	1,39
1	7	11,2	93	3,00	3,53	50,0	1,31
1	8	10,1	105	2,65	4,54	44,8	1,36
1	9	10,4	90	2,85	4,01	46,6	1,25
2	1	7,0	78	1,50	5,39	46,0	1,15
2	2	7,6	75	1,44	4,64	47,9	1,29
2	3	7,0	81	1,82	5,29	53,4	1,19
2	4	7,3	84	1,61	4,84	49,7	1,15
2	5	7,6	80	1,48	5,59	53,8	1,24
2	6	7,0	78	1,78	4,74	49,7	1,29
2	7	7,6	81	1,54	4,94	51,5	1,34
2	8	7,9	72	1,44	4,79	47,9	1,19
2	9	8,2	80	1,59	5,29	46,0	1,24
3	1	5,9	73	1,59	4,88	55,5	1,03
3	2	6,3	68	1,36	6,33	57,9	1,12
3	3	6,0	73	1,30	5,53	60,3	1,17
3	4	5,3	77	1,59	5,79	55,5	1,08
3	5	5,2	75	1,37	5,20	60,3	1,03
3	6	5,5	70	1,56	6,01	62,7	1,08
3	7	5,5	67	1,34	5,10	57,9	1,12
3	8	6,5	67	1,36	5,31	55,5	1,21
3	9	6,2	70	1,46	5,15	57,9	1,12
4	1	9,3	95	2,96	4,91	49,3	1,23
4	2	9,5	88	3,52	4,48	42,7	1,14
4	3	9,8	88	3,21	3,88	51,7	1,10
4	4	9,6	96	2,78	3,88	45,4	1,10
4	5	8,8	100	2,81	3,83	47,2	1,15
4	6	8,1	92	2,75	4,57	48,1	1,19
4	7	7,7	88	3,27	4,39	47,3	1,10
4	8	9,9	92	3,15	4,18	43,1	1,19
4	9	8,7	96	2,90	4,82	41,8	1,24
5	1	8,4	107	3,75	4,12	38,6	1,30
5	2	10,1	111	4,43	4,43	47,3	1,25
5	3	9,2	110	4,27	3,90	40,8	1,30
5	4	8,6	103	4,39	4,21	46,5	1,36
5	5	9,5	107	3,75	4,08	39,9	1,41
5	6	9,9	99	4,03	4,86	40,3	1,47
5	7	8,5	99	4,35	4,43	43,4	1,44
5	8	8,6	102	4,19	3,82	42,1	1,41
5	9	9,7	106	4,35	4,12	45,7	1,30

Tablo-10: Doku Biyokimya Veriler

4.2.1 Doku BDNF Düzeyleri



Grafik-7: Doku biyokimya verilerinde grup içi BDNF değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

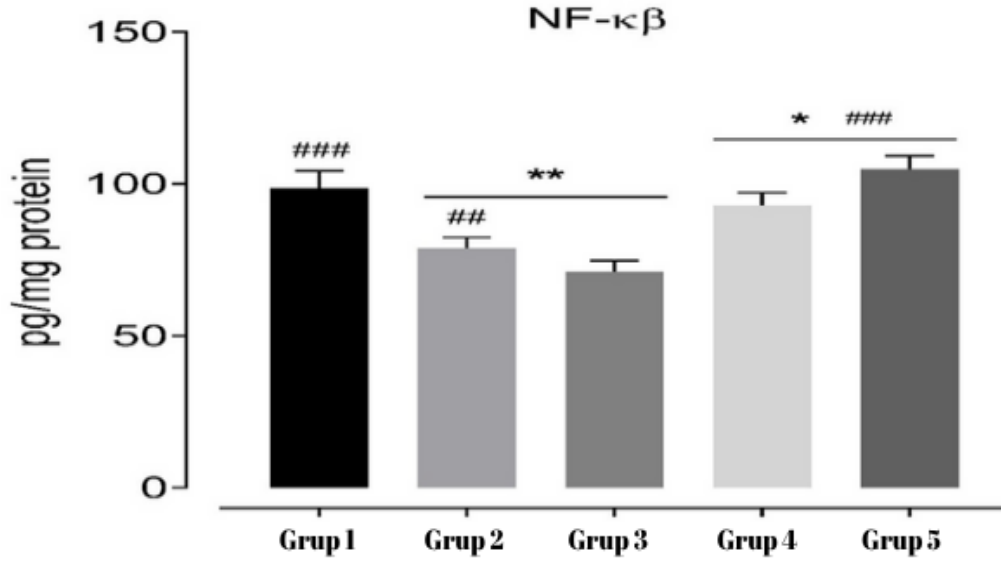
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

Doku BDNF düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,001$). Cerrahi stres uygulanan Grup 2'de anlamlı şekilde azalmış olup, bu düşüş Grup 3'te daha da belirginleşmiştir ($p<0,001$). ISL uygulanan Grup 4 ve 5'te BDNF seviyeleri, Grup 3'e kıyasla anlamlı şekilde artış göstermiştir ($p<0,001$).

Tablo-11: Grupların BDNF Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P
Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	Arit.ort. ±SS	
10.31±0.28###	7.47±0.28 ****#####	5.82±0.28 ***	9.04±0.28 ****###	9.17±0.28 **###	<0,001

4.2.2 Doku NF-κB Düzeyleri



Grafik-8: Doku biyokimya verilerinde grup içi NF-κB değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

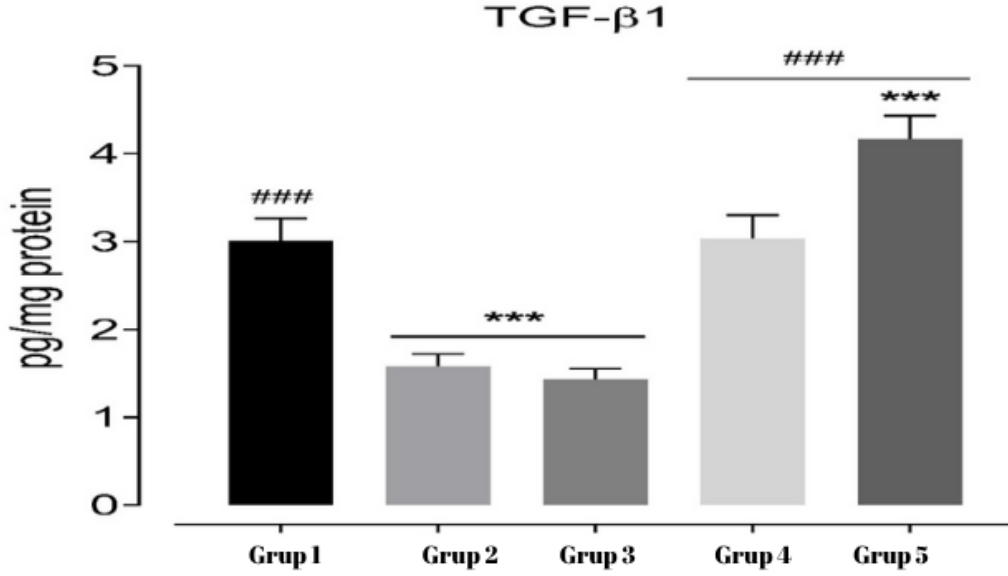
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

NF-κB düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (p<0,001). Grup 2 ve Grup 3'te NF-κB düzeyleri Grup 1 'e göre anlamlı şekilde azalmıştır (p<0,01). ISL tedavisi uygulanan gruplarda bu düşüşe karşı belirgin bir toparlanma gözlenmiştir. Grup 4 ve Grup 5'teki NF-κB düzeyleri hem Grup 1'e göre p<0,05 hem de Grup 3'e göre p<0,001 düzeyinde anlamlı artış göstermiştir.

Tablo-12: Grupların NF-κB Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P
Arit.ort. ±SS	Arit. ort. ±SS	Arit. ort. ±SS	Arit. ort. ±SS	Arit. ort. ±SS	
97.78±5.72###	80.78±1.64**	71.33±3.57**	92.78±4.29*###	104.89±4.40*###	<0,001

4.2.3 Doku TGF-β1 Düzeyleri



Grafik-9: Doku biyokimya verilerinde grup içi TGF-β1 değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

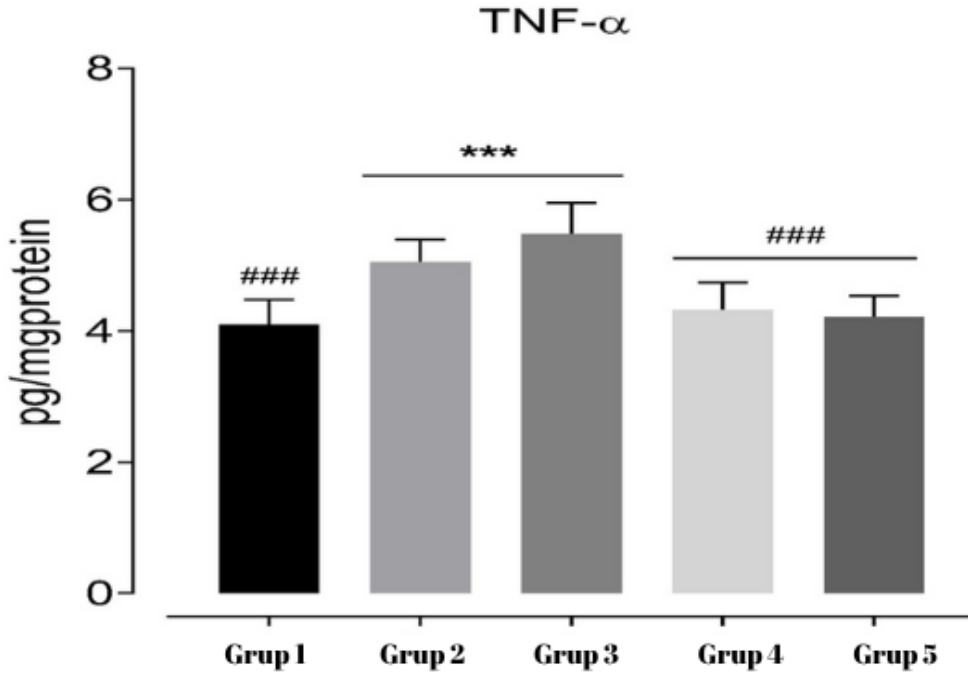
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

TGF-β1 düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,001$). Grup 2 ile Grup 3'te, Grup 1'e kıyasla anlamlı azalma izlenmiştir. ($p<0,001$). ISL uygulanan gruplarda ise belirgin bir toparlanma gözlenmiştir. Grup 4, Grup 3'e göre artış izlenmiştir ($p<0,001$). Özellikle Grup 5'te, TGF-β1 düzeyleri hem Grup 1 hem de Grup 3 'e göre anlamlı artış göstermiştir ($p<0,001$).

Tablo-13: Grupların TGF-β1 Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P
Arit. ort. ±SS	Arit. ort. ±SS	Arit. ort. ±SS	Arit. ort. ±SS	Arit. ort. ±SS	
3.08±0.32####	1.49±0.08****	1.44±0.12***	3.04±0.26####	4.12±0.26****###	<0,001

4.2.4 Doku TNF- α Düzeyleri



Grafik-10: Doku biyokimya verilerinde grup içi TNF- α değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

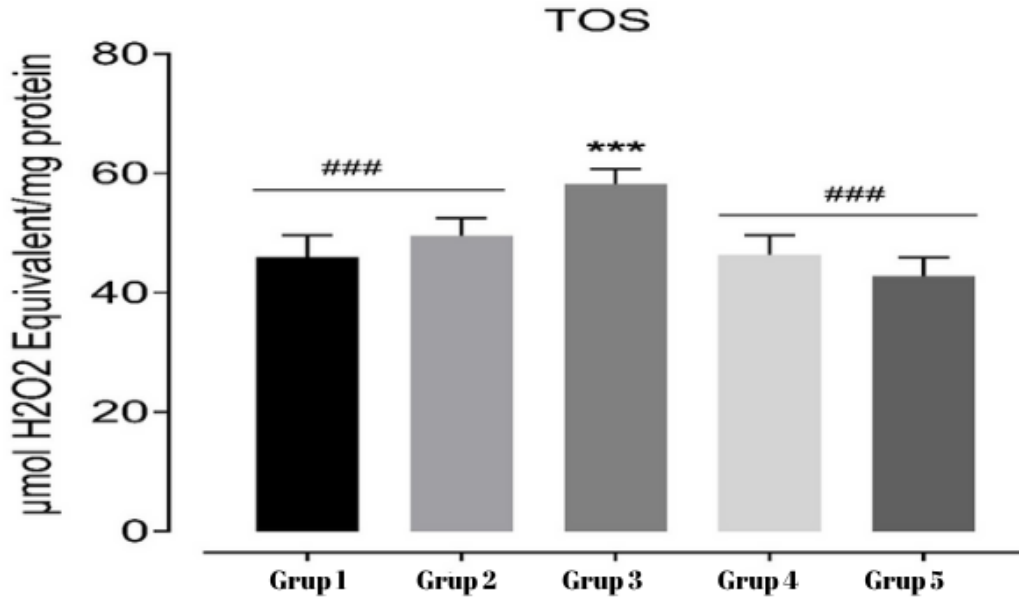
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

TNF- α düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,001$). Grup 2 ve Grup 3 TNF- α düzeyleri Grup 1'e göre anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,001$). ISL uygulanan Grup 4 ve 5'te ise TNF- α düzeyleri Grup 3'e göre anlamlı şekilde azalmış ($p<0,001$).

Tablo-14: Grupların TNF- α Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P
Arit.ort. \pm SS	Arit. ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	
3.95 \pm 0.35###	5.36 \pm 0.29****	5.48 \pm 0.48***	4.33 \pm 0.41###	4.22 \pm 0.32###	<0,001

4.2.5 Doku TOS Düzeyleri



Grafik-11: Doku biyokimya verilerinde grup içi TOS değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

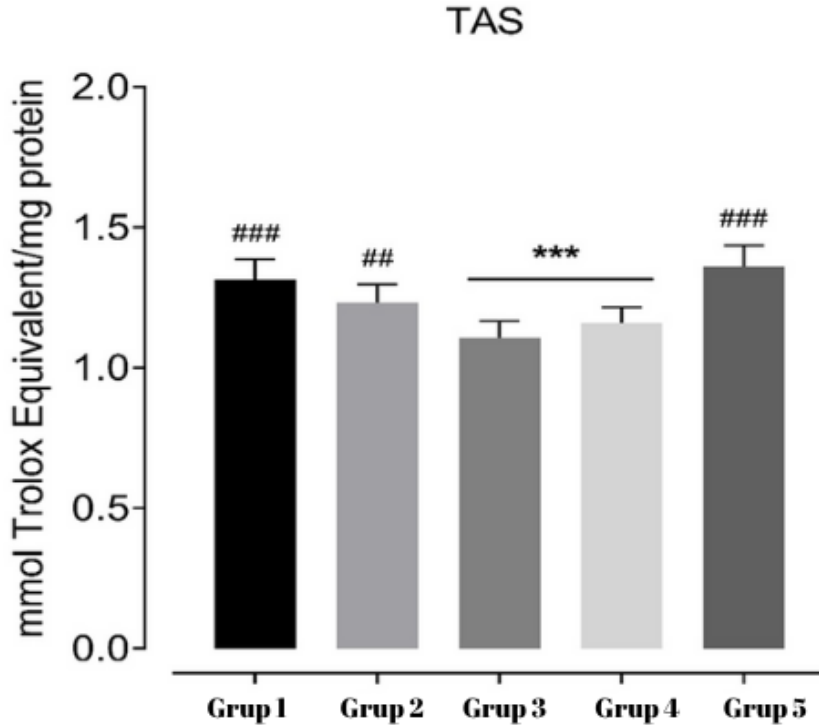
p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

TOS değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,001$). Grup 3'te TOS düzeyleri, Grup 1'e göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0,001$). ISL tedavisi uygulanan Grup 4 ve Grup 5'te ise TOS düzeyleri Grup 3'e kıyasla anlamlı olarak azalmış ($p<0,001$).

Tablo-15: Grupların TOS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9) Arit. ort. ±SS	Grup 2 (n=9) Arit.ort.±SS	Grup 3 (n=9) Arit. ort. ±SS	Grup 4 (n=9) Arit. ort. ±SS	Grup 5 (n=9) Arit. ort. ±SS	P
43.96±3.92###	49.12±2.66###	58.17±2.53***	46.29±3.31###	42.58±2.74###	<0,001

4.2.6 Doku TAS Düzeyleri



Grafik-12: Doku biyokimya verilerinde grup içi TAS değerlerinin dağılımı

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

TAS düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,001$). Grup 3, Grup 1'e göre anlamlı düzeyde düşük TAS düzeyi göstermiştir (** $p<0,001$). Cerrahi stres uygulanan Grup 2, Grup 3'e kıyasla anlamlı düzeyde yüksek TAS seviyesi göstermiştir ($p<0,01$), ancak yine de Grup 1 düzeyinin belirgin altında kalmıştır. Grup 5'te ise TAS düzeylerinde Grup 3'e göre anlamlı artış göstermiştir ($p<0,001$).

Tablo-16: Grupların TAS Aritmetik Ortalaması ve Standart Sapma Değerleri

Grup 1 (n=9)	Grup 2 (n=9)	Grup 3 (n=9)	Grup 4 (n=9)	Grup 5 (n=9)	P
Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	Arit.ort. \pm SS	
1.31 \pm 0.06###	1.22 \pm 0.06##	1.11 \pm 0.06***	1.16 \pm 0.06	1.36 \pm 0.08###	<0,001

4.2.7 Doku Biyokimyasal Verilerin Analizi

Bu çalışmada, TMSH'nin oluşturduğu doku düzeyindeki biyokimyasal değişimler ile ISL tedavisinin bu parametreler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. İncelenen tüm biyokimyasal parametreler normal dağılım gösterdiğinden istatistiksel analizlerde tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) uygulanmış, anlamlı farklılık saptanan değişkenler için Tukey's multiple comparisons post-hoc testi yapılmıştır. Anlamlı farklar; * işareti Grup 1 (İntakt Kontrol Grubu) ile karşılaştırmaları, # işareti ise Grup 3 (travma + DMSO) ile karşılaştırmaları göstermektedir (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, # $p<0.05$, ## $p<0.01$, ### $p<0.001$).

BDNF düzeyleri, Grup 2 ve Grup 3'te daha belirgin olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0.001$). ISL uygulanan Grup 4 ve özellikle Grup 5'te ise BDNF seviyeleri, Grup 3'e göre anlamlı şekilde artmıştır ($p<0.001$).

NF- κ B düzeyleri, Grup 2 ve Grup 3, Grup 1 'e kıyasla anlamlı şekilde düşmüştür ($p<0.01$). ISL tedavisi ile bu parametrede artma gözlenmiş, Grup 4 ve özellikle Grup 5'teki düzeyler hem Grup 1'e göre $p<0,05$ hem de Grup 3'e göre $p<0,001$ düzeyinde anlamlı artış göstermiştir.

TGF- β 1 düzeyleri, Grup 2 ve Grup 3, Grup 1 'e kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0.001$). ISL uygulanan Grup 4 ve Grup 5 bu düşüşe karşı anlamlı düzeyde toparlanma gözlenmiş, özellikle yüksek doz ISL uygulanan Grup 5'te TGF- β 1 düzeyleri hem Grup 1'e göre hem de Grup 3'e göre anlamlı artmıştır ($p<0.001$, $p<0.001$).

TNF- α düzeyleri, Grup 2 ve Grup 3, Grup 1 'e kıyasla anlamlı şekilde artmıştır ($p<0.001$). ISL tedavisi bu artışı baskılamış; Grup 4 ve Grup 5'te TNF- α düzeyleri, Grup 3'e kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0.001$).

TOS düzeyleri, Grup 3'te Grup 1 'e kıyasla anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p<0.001$). ISL tedavisi ile bu yükselme baskılanmış; Grup 4 ve özellikle Grup 5'te Grup 3'e kıyasla anlamlı azalma izlenmiştir ($p<0.001$).

TAS düzeyleri Grup 3'te, Grup 1'e göre anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,001$). Cerrahi stres uygulanan Grup 2, Grup 3'e kıyasla daha yüksek TAS düzeyine sahip olsa da Grup 1'in altında kalmıştır ($p<0,01$). ISL uygulanan Grup 5'te ise TAS düzeylerinde Grup 3'e göre anlamlı artış göstermiştir ($p<0,001$).

4.3. Histolojik prosedürler

Dokular çıkarıldıktan sonra 2 gün %10'luk formaldehitte tespit edildi. NEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D laboratuvarında rutin histolojik takip sonrası parafine gömüldü ve 4 mikronluk kesitler alındı.

4.3.1. Histopatoloji

Ratlardan elde edilen spinal kord kesitleri hematoksilin eozin boyası kullanılarak histoloji laboratuvarında ışık mikroskobu altında incelendi. Spinal kordun tüm örneklerinde, histopatolojik değişikliklerin sınıflandırılmasında 0 ve 3 arasında değişen skorlama sistemi kullanıldı. 5 farklı parametre (hemoraji, ödem, aksonal dejenerasyon, vakuolizasyon ve Nöron nekrozu) değerlendirildi ve skorlandı. 0=yok, 1=hafif, 2=orta, 3=yaygın. Her örnek için histopatolojik puan, bu 5 parametrenin puanlarının ortalaması alınarak hesaplandı. Her bir kesit için en fazla 15 puan hesaplanma ihtimali bulunmaktadır.

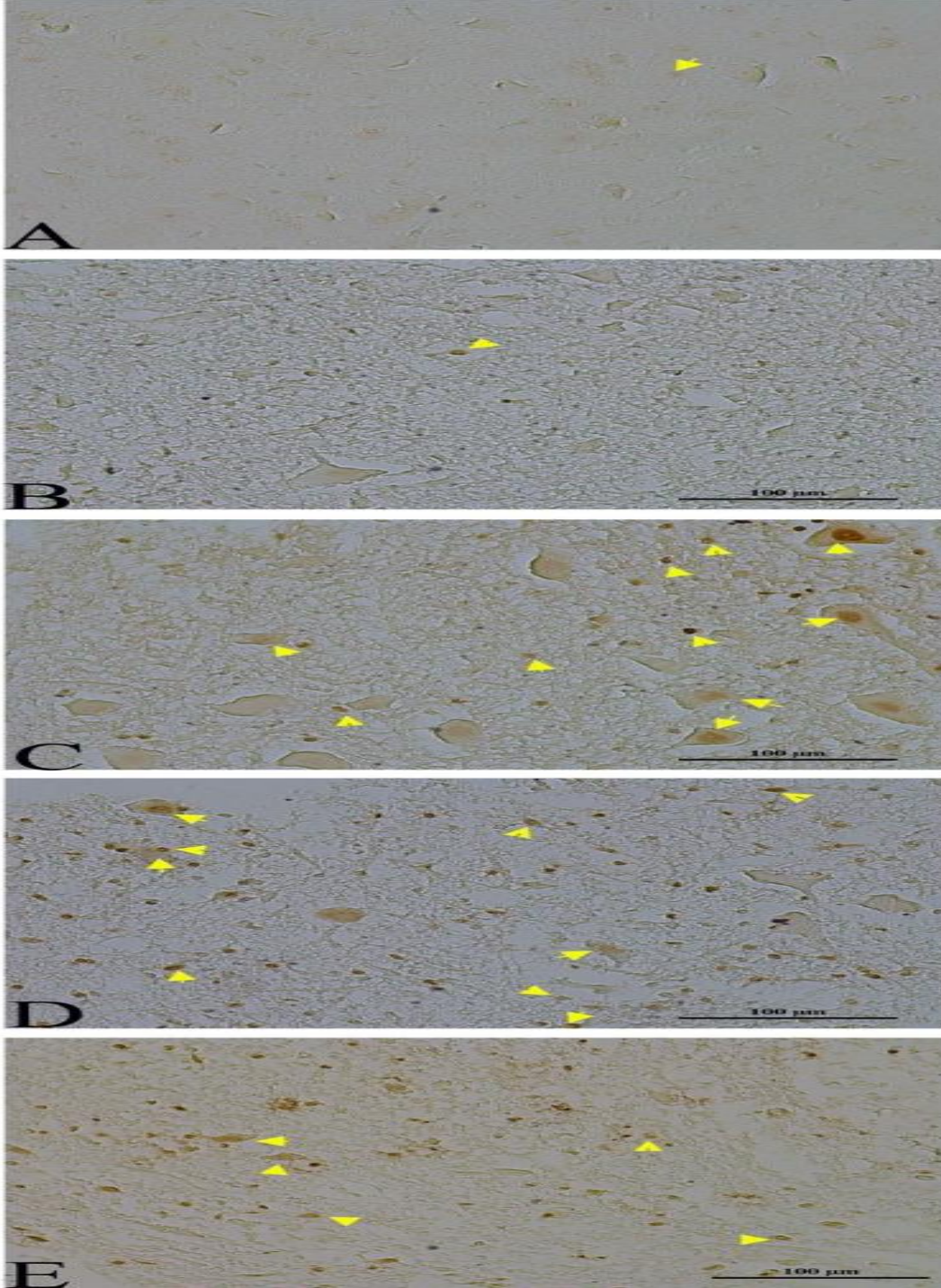
4.3.2. TUNEL Methodu ve İstatistiksel Analiz

Apoptotik hücreler, bir ApopTag In Situ Apoptoz Tespit Kiti (Millipore) kullanılarak etiketlendi. DNA fragmanları terminal deoksinükleotidil transferazın etkisiyle modifiye edildi. Tüm prosedürler üreticinin talimatlarını izledi. TUNEL pozitif ve toplam hücreler gri maddede 4 mikronluk kesitlerde 20'lik objektifde sayıldı ve yüzdeleri alındı.(L. M. Wang et al., 2005)

TUNEL pozitif hücre sayısı ve histopatolojik skor TUKEY testi ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak karşılaştırıldı.

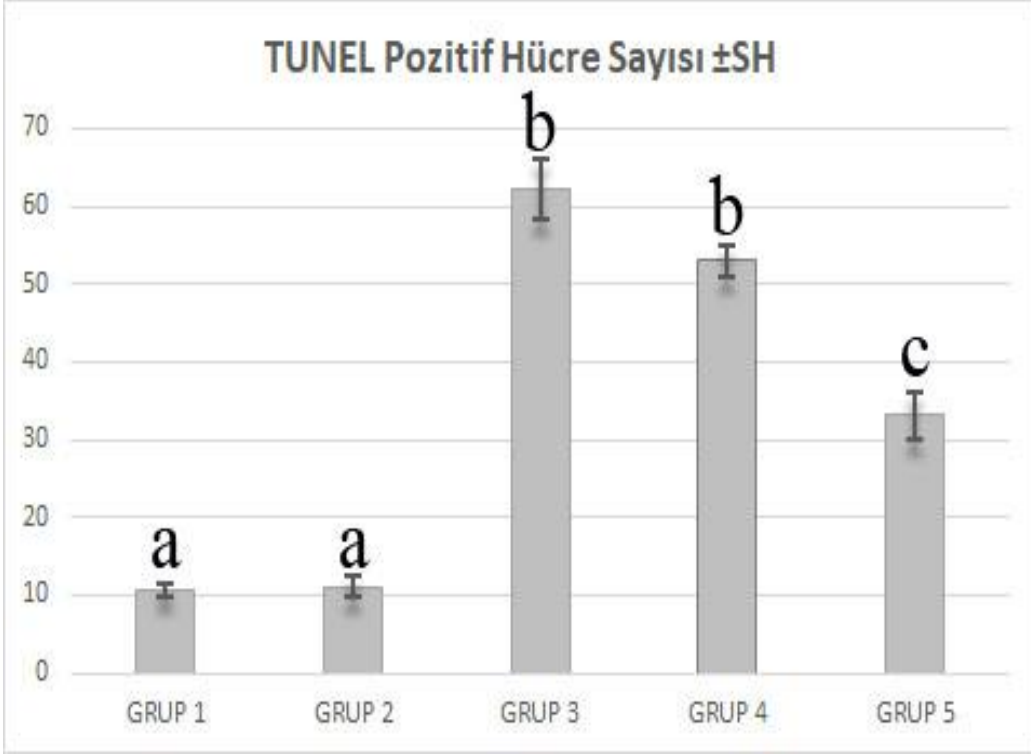
4.3.3. Bulgular ve TUNEL Sonuçları

Grup 1 ve Grup 2'ye göre (Resim 9A) ve Grup 2'ye (Resim 9B) göre Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'te anlamlı olarak TUNEL pozitif hücre sayısının arttığı belirlendi. Grup 3 (Resim 9C) ve Grup 4 (Resim 9D) TUNEL pozitif hücre sayısı ortalaması benzerdi ve anlamlı fark tespit edilemedi. Grup 5'te (Resim 9E) ise TUNEL pozitif hücre sayısının anlamlı olarak Grup 3'e ve Grup 4'e göre azaldığı tespit edildi.



Resim-9: TUNEL pozitif hücreler (Sarı ok başları).

A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4, E: Grup 5

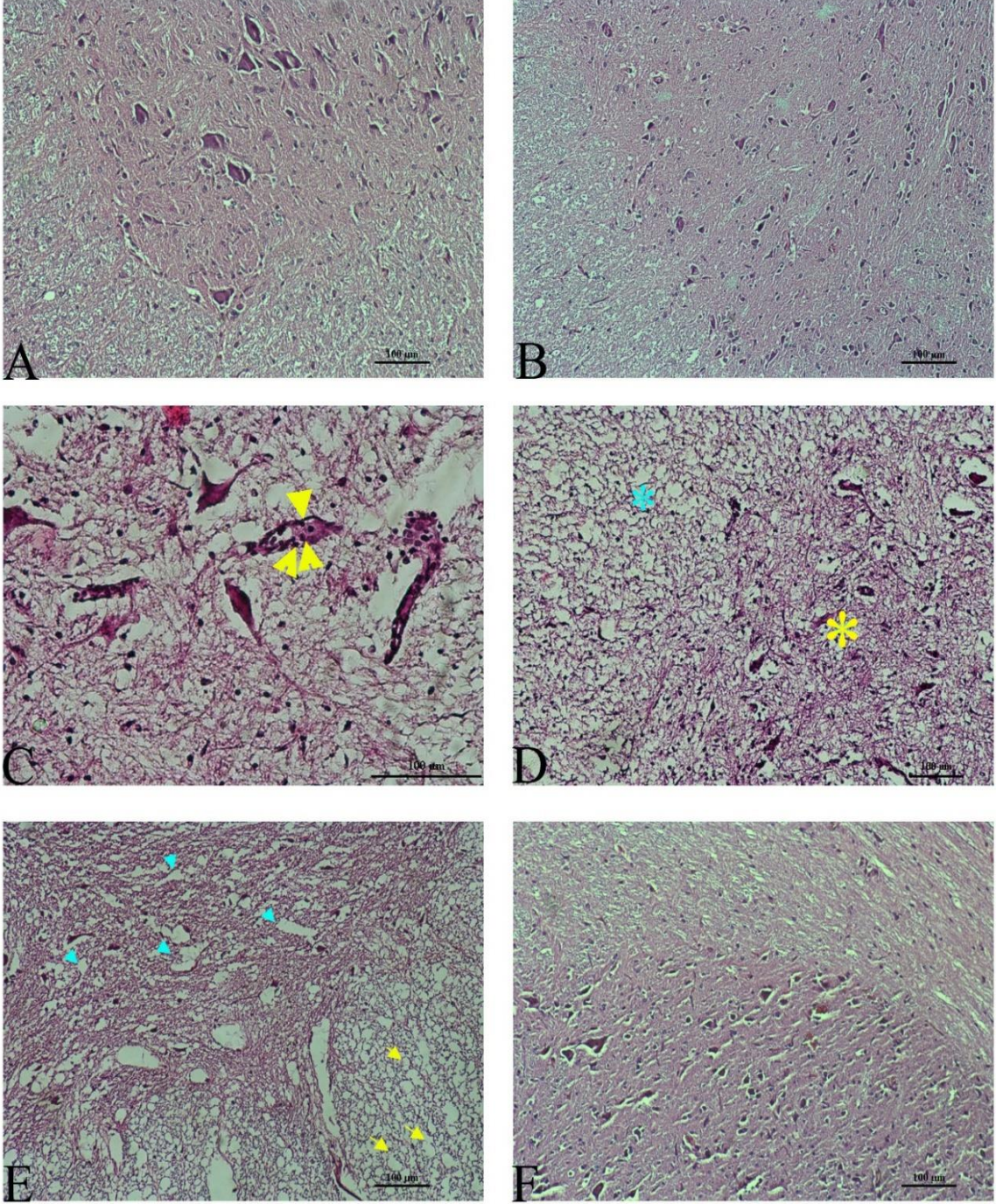


Grafik-13: Grupların TUNEL-pozitif hücelere göre grupların karşılaştırılması.

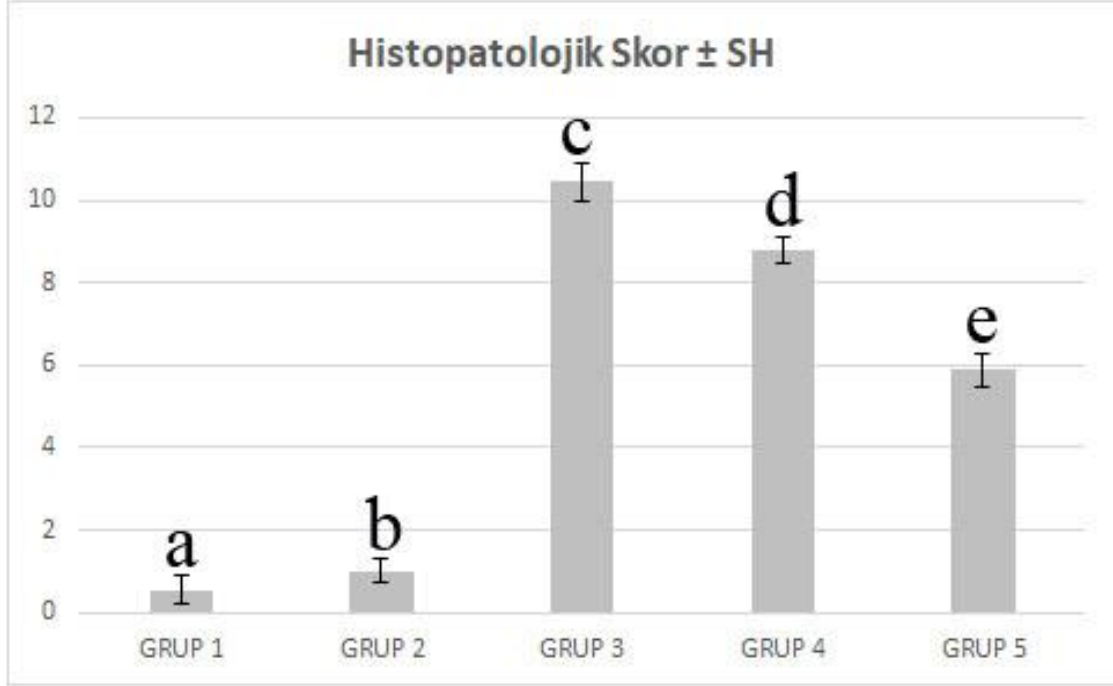
Grup 3'te TUNEL-pozitif hücre sayısı anlamlı düzeyde artış göstermiştir ve bu durum travmanın apoptozu yoğun biçimde indüklediğini düşündürmektedir. Grup 4'te (travma + düşük doz tedavi) apoptoz düzeyi yüksek kalmaya devam etmiş olup, istatistiksel olarak Grup 3 ile benzer düzeydedir (aynı harf: **b**). Grup 5'te (travma + yüksek doz tedavi) TUNEL-pozitif hücre sayısı anlamlı düzeyde azalmış (**c** harfi), bu da yüksek doz tedavinin apoptozu baskılayıcı etkisini göstermektedir. Kontrollere karşılık gelen Grup 1 ve yalnızca laminektomi uygulanan Grup 2'de düşük TUNEL aktivitesi gözlenmiş olup, bu gruplar istatistiksel olarak benzer şekilde en düşük değerleri göstermektedir (**a** harfi). Farklı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($P < 0,05$).

4.3.4. Histopatolojik Bulgular ve İstatistiksel Analiz

Grup 1 (Resim 10A) ve Grup 2'de (Resim 10B) normal medulla spinalis histolojisi incelendi. Grup 3 (Resim 10C) ve Grup 4'te (Resim 10D-10E) gri maddede ödem, vakuolizasyon ve nekrotik nöronlar gözlemlendi ve beyaz cevherde aksonal dejenerasyon gözlemlendi. Grup 5'te (Resim 10F) bu bulguların şiddetinin azaldığı tespit edildi. Ayrıca Grup 3 ve Grup 4'te diğer gruplara göre glial hücre çekirdekleri belirgin ve fazlaydı.



Resim-10: Medulla spinalis kesitlerinde HE. A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3. Gri cevherde vakuolizasyon, Neuronophagia (sarı oklar) ve glial hücre artışı. D: Grup 4. Beyaz cevherde (mavi asteriks), vakuolizasyon ve gri cevherde (sarı asteriks) glial hücre artışı, E: Grup 4. Nöronların sayısında azalma ve belirgin vakuolizasyonu (Gri cevher mavi oklar, Beyaz cevher sarı oklar) ortaya koymaktadır. F: Grup 5. Bu bulguların şiddetinin azaldığı tespit edildi.



Grafik-14: Histopatolojik hasar skoruna göre grupların karşılaştırılması.

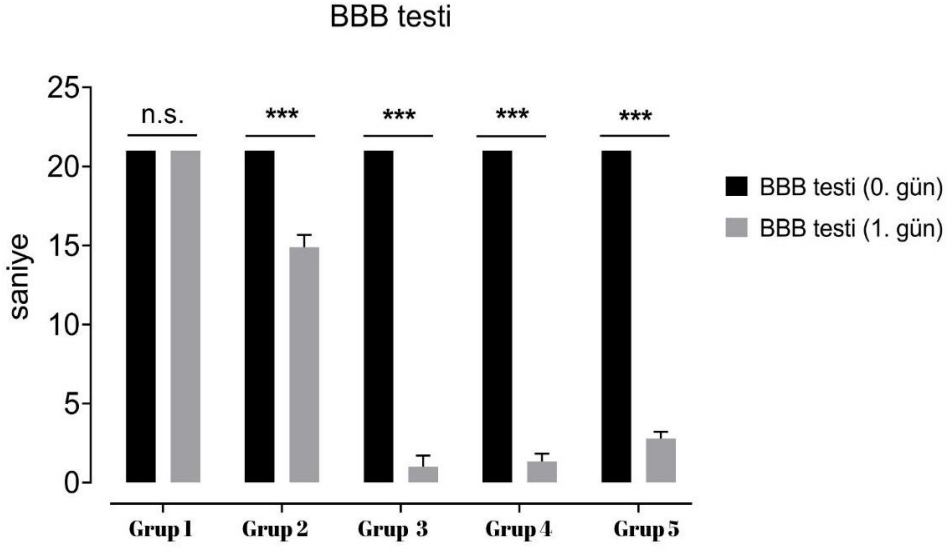
Hematoksilen Eozin boyanan kesitlerde histopatolojik skorun en yüksek olduğu grup travma grubunu temsil eden Grup 3'te bulunmuş (c harfi), bu da travmatik etiyolojinin histolojik düzeyde belirgin doku harabiyetine neden olduğunu göstermektedir. Düşük doz tedavi uygulanan Grup 4'te histopatolojik skor travma grubuna göre azalmış, ancak anlamlı düzeyde yüksek kalmıştır (d harfi). Yüksek doz tedavi uygulanan Grup 5'te ise skor daha da düşerek anlamlı düzeyde azalmış ve doku koruyucu etkisinin daha belirgin olduğu gözlenmiştir (e harfi). Kontrollere karşılık gelen Grup 1 ve yalnızca cerrahi stres içeren Grup 2, istatistiksel olarak daha düşük hasar skorları göstermiştir (a ve b harfleri). Farklı harflerle temsil edilen gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$). (Grafik 14).

4.4. Fiziksel Test Verileri

Grup	Rat	BBB Skoru 0.gün	BBB Skoru 1.gün	BBB Skoru 3.gün	BBB Skoru 7.gün	Modifiye Tarlov Skoru 0. gün	Modifiye Tarlov Skoru 1. gün	Modifiye Tarlov Skoru 3. gün	Modifiye TarlovSkoru 7.gün
Grup1	Rat 1	21	21	21	21	5	5	5	5
Grup 1	Rat 2	21	21	21	21	5	5	5	5
Grup 1	Rat 3	21	21	21	21	5	5	5	5
Grup 1	Rat 4	21	21	21	21	5	5	5	5
Grup 1	Rat 5	21	21	21	21	5	5	5	5
Grup 1	Rat 6	21	21	21	21	5	5	5	5
Grup 1	Rat 7	21	21	21	21	5	5	5	5
Grup 1	Rat 8	21	21	21	21	5	5	5	5
Grup 1	Rat 9	21	21	21	21	5	5	5	5
Grup 2	Rat 1	21	14	18	21	5	3	4	5
Grup 2	Rat 2	21	15	19	21	5	4	5	5
Grup 2	Rat 3	21	14	18	21	5	3	5	5
Grup 2	Rat 4	21	15	18	19	5	3	4	4
Grup 2	Rat 5	21	16	19	21	5	3	5	5
Grup 2	Rat 6	21	16	19	21	5	4	5	5
Grup 2	Rat 7	21	15	18	21	5	3	4	5
Grup 2	Rat 8	21	14	19	19	5	3	4	4
Grup 2	Rat 9	21	15	18	21	5	4	4	5
Grup 3	Rat 1	21	0	3	5	5	0	1	2
Grup 3	Rat 2	21	1	3	5	5	1	1	2
Grup 3	Rat 3	21	1	2	3	5	1	2	2
Grup 3	Rat 4	21	0	2	5	5	0	1	2
Grup 3	Rat 5	21	1	4	5	5	1	1	2
Grup 3	Rat 6	21	1	4	6	5	1	1	2
Grup 3	Rat 7	21	2	3	6	5	1	1	2
Grup 3	Rat 8	21	2	3	5	5	1	2	2
Grup 3	Rat 9	21	1	3	5	5	1	1	2
Grup 4	Rat 1	21	1	5	9	5	1	2	3
Grup 4	Rat 2	21	2	5	7	5	1	3	3
Grup 4	Rat 3	21	1	5	9	5	1	3	3
Grup 4	Rat 4	21	2	5	7	5	2	3	3
Grup 4	Rat 5	21	1	5	9	5	2	2	3
Grup 4	Rat 6	21	1	4	9	5	1	3	3
Grup 4	Rat 7	21	1	6	8	5	1	2	3
Grup 4	Rat 8	21	2	5	8	5	1	3	3
Grup 4	Rat 9	21	1	4	7	5	2	2	3
Grup 5	Rat 1	21	3	8	13	5	3	4	4
Grup 5	Rat 2	21	3	8	12	5	2	3	3
Grup 5	Rat 3	21	2	10	13	5	3	4	4
Grup 5	Rat 4	21	2	6	13	5	3	3	4
Grup 5	Rat 5	21	3	7	14	5	3	3	4
Grup 5	Rat 6	21	3	10	12	5	2	4	4
Grup 5	Rat 7	21	3	10	12	5	3	4	4
Grup 5	Rat 8	21	3	8	14	5	3	3	4
Grup 5	Rat 9	21	3	8	14	5	2	3	3

Tablo-17: Deneyin 0. 1.3. ve 7. Gün BBB ve Modifiye Tarlov Skorları

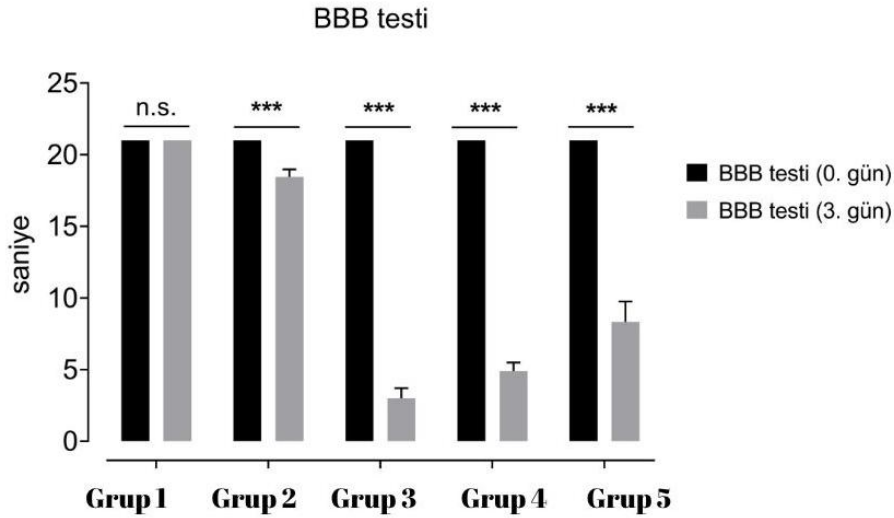
4.4.1. Deney Gruplarında Zamana Bağlı BBB Testi Skorlarının Grup İçi Karşılaştırılması



Grafik-15: Grup İçi 0. ve 1. Gün BBB Skorlarının Karşılaştırılması

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

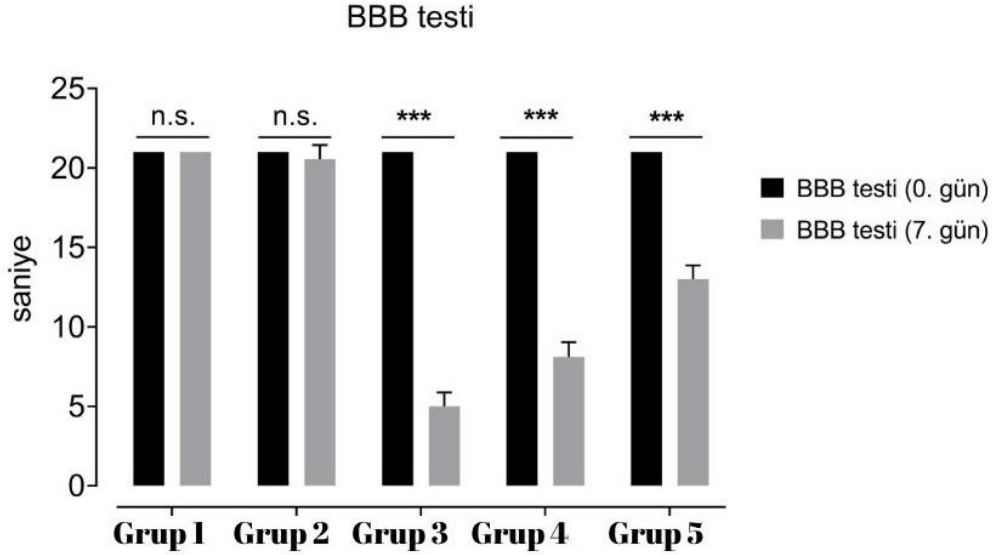
1. gün sonuçlarına göre, tüm travmatik gruplarda 0. güne kıyasla anlamlı skor düşüşü izlenmiştir ($p < 0,001$). Bu sonuç, travma sonrası akut motor fonksiyon kaybını doğrulamaktadır.



Grafik-16: Grup İçi 0. ve 3. Gün BBB Skorlarının Karşılaştırılması

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Travmatik gruplarda 3. günde skorlar 0. güne göre anlamlı olarak düşüktür ($p<0.001$). ISL 40 mg/kg uygulanan Grup 5'te, 1. güne kıyasla iyileşme eğilimi izlenmiş olup, bu durum ISL'nin fonksiyonel iyileşmeye katkı sunduğunu göstermektedir.

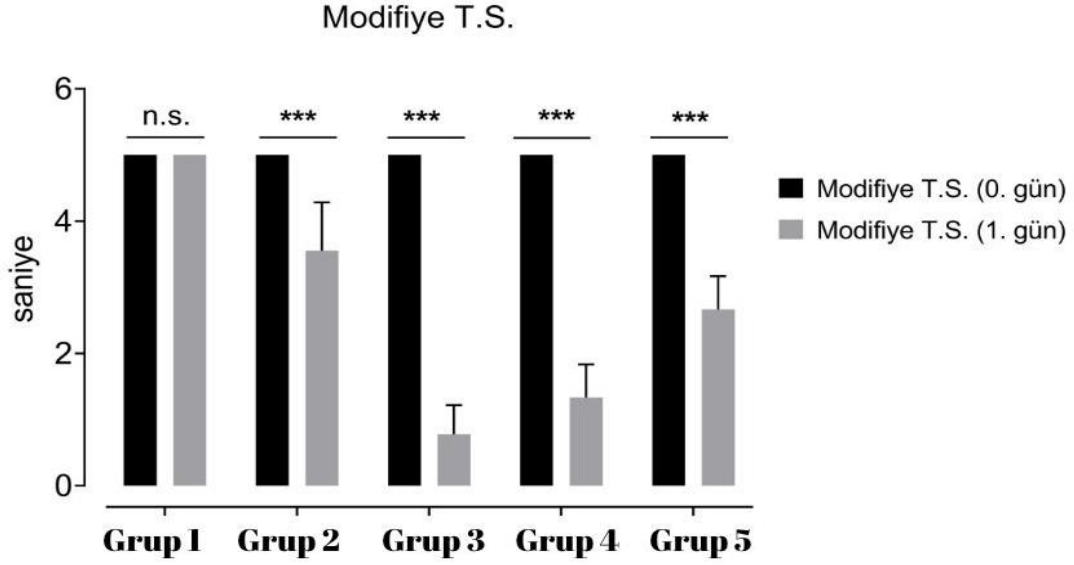


Grafik-17: Grup İçi 0. ve 7. Gün BBB Skorlarının Karşılaştırılması

* $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

7.gün itibariyle ISL 40 mg/kg uygulanan Grup 5 skorların belirgin şekilde arttığı ve fonksiyonel iyileşmenin devam ettiği gözlenmiştir ($p<0.001$). Bu durum, ISL'nin zamanla daha etkin nöroprotektif etki gösterebileceğini desteklemektedir.

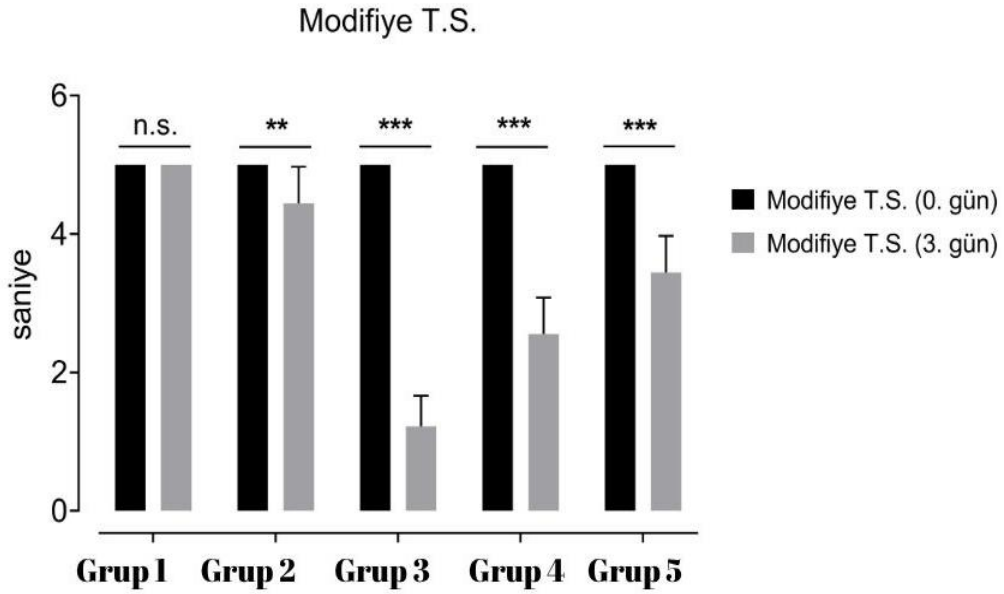
4.4.2. Deney Gruplarında Zamana Bağlı Modifiye Tarlov Testi Skorlarının Grup İçi Karşılaştırılması



Grafik-18: Grup İçi 0. ve 1. Gün Modifiye T.S.'lerinin Karşılaştırılması

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

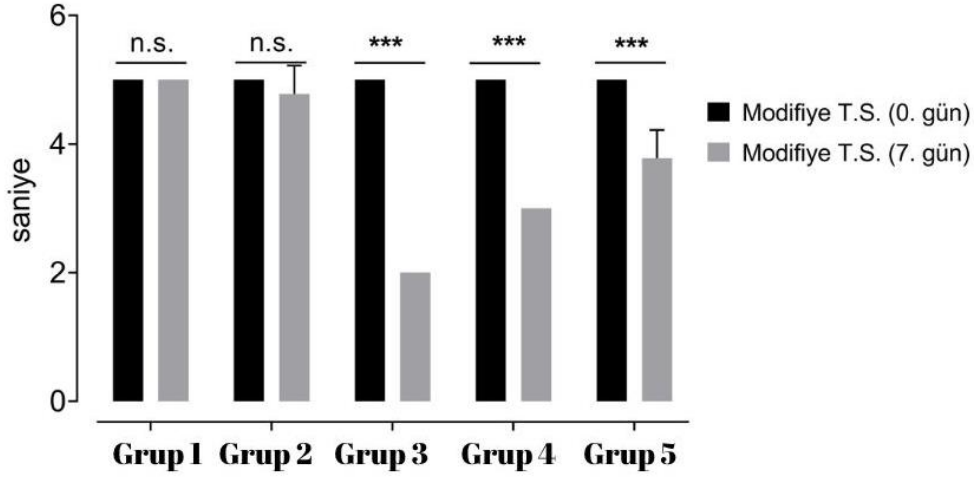
Sağlıklı grupta herhangi bir değişiklik saptanmazken (n.s.), Grup 2, Grup 3 ve ISL uygulanan Grup 4 ve Grup 5'te, 1. gün itibariyle anlamlı skor düşüşü gözlenmiştir ($p < 0,001$). Bu düşüş, spinal kord hasarına bağlı nörolojik bozulmayı yansıtmaktadır. ISL uygulanan gruplarda erken dönemde kısmi iyileşme eğilimi izlenmiştir.



Grafik-19: Grup İçi 0. ve 3. Gün Modifiye T.S.'lerinin Karşılaştırılması

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

3. günde Grup 2 grubunda $p < 0.01$, Grup 3 ve ISL uygulanan Grup 4 ve Grup 5 ise anlamlı skor düşüşü ($p < 0.001$) devam etmektedir. Özellikle 40 mg/kg ISL uygulanan Grup 5'te, 1. güne göre belirgin bir skor artışı gözlenmektedir. Bu bulgu, ISL'nin zamanla fonksiyonel iyileşmeyi artırdığını düşündürmektedir.

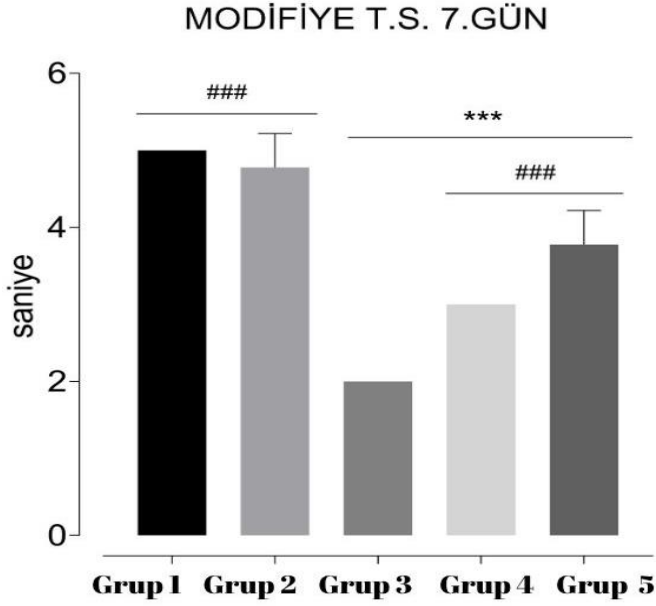


Grafik-20: Grup İçi 0. ve 7. Gün Modifiye T.S.'lerinin Karşılaştırılması

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Grup 3 ve ISL uygulanan Grup 4 ve Grup 5'te 7. günde de anlamlı skor kaybı sürmektedir ($p < 0.001$). Ancak 40 mg/kg ISL grubunda 7. gün skoru, 1. ve 3. günlere göre daha yüksek seviyeye ulaşmıştır.

4.4.3. Deneyin 7. Gün Modifiye Tarlov Skorlarının Gruplar Arası Değerlendirilmesi



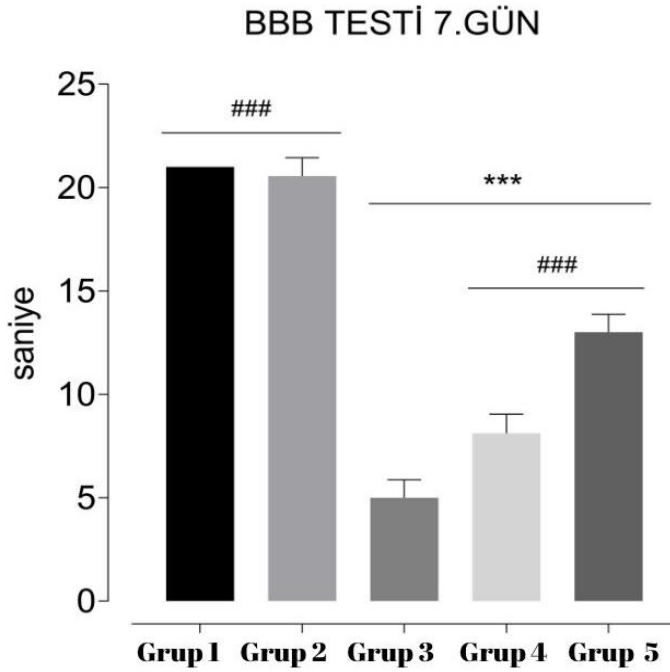
Grafik-21: Gruplar Arası 7. Gün Modifiye T.S.'lerinin Karşılaştırılması

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

Grup 1 ve Grup 2 de yüksek motor performans göstermekte. Grup 3, motor fonksiyonda belirgin azalma göstermekte. Düşük doz ISL uygulanan Grup 4, Grup 3'e göre anlamlı artış göstermiştir (p<0.001), ancak Grup 1 ve Grup 2'den düşüktür. Yüksek doz ISL uygulanan Grup 5, Grup 3'e göre anlamlı olarak daha iyi motor fonksiyon göstermektedir (p<0.001) ve Grup 4'ten daha yüksektir. Ancak Grup 1'e göre anlamlı düşüktür (p<0.001).

4.4.4. Deneyin 7. Gün BBB Skorlarının Gruplar Arası Değerlendirilmesi



Grafik-22: Gruplar Arası 7. Gün BBB Skorların Karşılaştırılması

*: Grup 1 ile #: Grup 3 ile karşılaştırmayı ifade etmektedir.

p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001

Grup 1 ve Grup 2 yüksek lokomotor kapasite korunmuş. Grup 3, ciddi lokomotor defisit göstermektedir. Düşük doz ISL uygulanan Grup 4, Grup 3 göre anlamlı derecede iyileşme göstermiştir (p<0.001), ancak mutlak skor hâlâ düşüktür. Yüksek doz ISL uygulanan Grup 5, Grup 3'e göre anlamlı düzelme göstermiştir (p<0.001). Grup 1 'e göre fark yine anlamlı düşüktür (p<0.001).

5. TARTIŞMA

TMSH, primer travmanın ardından gelişen ve doku hasarını derinleştiren kompleks sekonder olaylar zinciriyle karakterizedir. Bu sekonder süreçlerin başında ise oksidatif stres, nöroinflamasyon ve apoptozis gibi mekanizmalar yer almaktadır. Travmaya yanıt olarak artan reaktif oksijen türleri, hücresel lipitler, proteinler ve DNA üzerinde geri dönüşümsüz hasarlara neden olmakta; bu da nöronal dejenerasyonun temel patofizyolojik bileşenlerinden birini oluşturmaktadır.

5.1. Oksidatif Stres Üzerine Etkileri

Çalışmamızda, oksidatif stres göstergeleri olan TOS ve TAS hem serumda hem de omurilik dokusunda değerlendirilmiştir. Serum TOS düzeyleri, cerrahi stres (Grup 2) ve spinal travma (Grup 3) gruplarında sağlıklı kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla anlamlı olarak artmış; Grup 5'te (yüksek doz ISL uygulanan grup) ise bu artış anlamlı düzeyde azalmıştır. Serum TAS düzeyleri ise Grup 2 ve 3'te hafif azalma eğiliminde olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak ISL uygulaması ile özellikle Grup 5'te, TAS düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır.

Benzer eğilim doku düzeyinde de gözlenmiştir. Doku TOS düzeyleri, travma sonrası Grup 3'te belirgin şekilde artmış, ISL uygulanan Grup 4 ve 5'te ise anlamlı düzeyde azalmıştır. Doku TAS düzeyleri ise travma sonrası anlamlı azalma göstermiş, buna karşın ISL tedavisiyle Grup 5'te anlamlı artış izlenmiştir. Ulaş ve arkadaşlarının yayımladıkları bir çalışmada, ratlarda oluşturulan deneysel spinal kord hasarı modelinde hasarlı dokuda TOS düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı, buna karşılık TAS düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir.(Ulaş & Argadal, 2023) Çalışmamızda spinal kord travması sonrası TOS seviyelerindeki yükselme ve TAS düzeylerinde azalma literatür ile uyumludur.

Dikkat çekici bir diğer bulgumuz ise, cerrahi stres grubunun (Grup 2), travma grubuna (Grup 3) kıyasla daha yüksek TAS düzeyine sahip olmasıdır ($p < 0,01$); bu durum cerrahi stresin antioksidan kapasiteyi tamamen baskılamadığını göstermektedir. Cerrahi müdahaleler, organizmada fizyolojik stres yanıtlarını tetikleyerek oksidatif stresin artmasına neden olabilir. Ancak bu etki, travmatik yaralanmalara kıyasla genellikle daha sınırlı ve geçicidir. Bu durum, cerrahi stresin oksidatif denge üzerindeki etkisinin travmaya kıyasla daha hafif olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, cerrahi stresin oksidatif stres yanıtının bir parçası olduğu ve minimal invaziv cerrahilerin daha az travmaya neden olarak

bu yanıtı azalttığı belirtilmiştir. Bu, cerrahi stresin oksidatif stres üzerindeki etkisinin sınırlı olabileceğini desteklemektedir. (Yiannakopoulou et al., 2013)

Ayrıca, cerrahi stresin neden olduğu oksidatif stresin, organizmanın antioksidan savunma mekanizmaları tarafından dengelenebileceği gösterilmiştir. Bir çalışmada, akut restriksiyon stresi uygulanan ratlarda oksidatif stres belirteçlerinde artış gözlenmiş, ancak L-askorbik asit ve nitrik oksit modülatörleri gibi antioksidanların bu değişiklikleri tersine çevirdiği bulunmuştur. Bu, cerrahi stresin neden olduğu oksidatif stresin, uygun antioksidan müdahalelerle dengelenebileceğini göstermektedir.(Pal et al., 2023)

Bu veriler, ISL'nin hem sistemik hem de doku düzeyinde oksidatif stres parametrelerini düzenleyici bir etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Antioksidan savunmayı güçlendirmesi ve oksidatif yükü azaltması, ISL'yi potansiyel bir nöroprotektif ajan olarak öne çıkarmaktadır. Bizim bulgularımız da bu literatürle paralellik göstermektedir. Nitekim yapılan deneysel bir çalışmada da ISL'nin iskemik beyin hasarı modelinde malondialdehit seviyelerini azalttığı ve süperoksit dismutaz aktivitesini artırarak oksidatif hasarı baskıladığı gösterilmiştir.(Zhan & Yang, 2006) Başka bir çalışmada ise ISL'nin antioksidan etkisinin Nrf2/HO-1 sinyal yolunun aktivasyonu üzerinden gerçekleştiği gösterilmiştir.(Hung et al., 2024)

5.2. İnflamatuvar Yanıt Üzerine Etkileri

Medulla spinalis hasarını takiben gelişen sekonder süreçlerin başında, proinflamatuvar yanıt yer almaktadır. Bu süreçte özellikle TNF- α ve NF- κ B gibi medyatörlerin salınımı, doku düzeyinde sitotoksik etkileri tetikleyerek nöronal kaybı artırmaktadır. Çalışmamızda, NF- κ B ve TNF- α düzeyleri hem serumda hem de spinal kord dokusunda gruplar arasında karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir. Serum düzeylerine ilişkin değerlendirmelerde, NF- κ B açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Özellikle Grup 2 ve Grup 3'te NF- κ B düzeylerinde düşüş eğilimi gözlenmiş, buna karşın Grup 5'te yeniden artış izlenmiştir. Ancak bu değişiklikler istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. Buna karşılık, doku düzeyinde elde edilen NF- κ B düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Grup 2 ve Grup 3'te NF- κ B düzeyleri, sağlıklı kontrol grubu olan Grup 1'e kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır. Bu azalmaya karşı ISL uygulanan Grup 4 ile Grup 5'teki NF- κ B düzeyleri Grup 3'e göre anlamlı düzeyde artış göstermiştir. NF- κ B, merkezi sinir sisteminde yer alan nöronlar, astrositler ve mikroglialar gibi farklı hücre tiplerinde bağlama ve zamanlamaya bağlı olarak çok yönlü roller üstlenen

kritik bir transkripsiyon faktörüdür. Nöronlarda NF- κ B aktivasyonu, sinaptik plastisite, uzun süreli potansiyasyon ve öğrenme gibi süreçleri destekleyerek nöronal sağkalımı artırabilir ve bu yolla nöroprotektif etki gösterebilir. Astrositlerde, glutamat taşıyıcısı GLT-1'in ekspresyonunu düzenleyerek glutamat homeostazının korunmasına katkı sağlarken; mikroglialarda, erken evrede proinflamatuvar yanıtları tetikleyebilir, ancak geç evrede doku onarımı, immün modülasyon ve rejeneratif süreçlerin düzenlenmesinde rol alabilir. Bu çift yönlü etkiler, özellikle NF- κ B'nin aktivasyon zamanlaması ve hücre tipine özgü yanıtlarla yakından ilişkilidir. Kaltschmidt'in sinir sistemine yönelik genetik modellerle desteklenen çalışmalarında da NF- κ B'nin bağlamsal uyarana ve hücrenel ortama göre hem inflamatuvar hem de nöroprotektif etkilere sahip olabileceği açıkça gösterilmiştir.(Dresselhaus & Meffert, 2019; Kaltschmidt & Kaltschmidt, 2009b)

Çalışmamızda, TMSH modelinde uygulanan ISL tedavisi sonrasında NF- κ B düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu bulgu, NF- κ B'nin yalnızca proinflamatuvar süreçlerde değil, aynı zamanda nöronal sağkalım, doku onarımı ve immün düzenlemede de rol alabileceğini göstermektedir. NF- κ B'nin aktivasyonunun farklı alt birimlerine bağlı olarak çift yönlü etkiler gösterebildiği bildirilmektedir: Örneğin, c-Rel alt birimi Bcl-xL ve MnSOD gibi anti-apoptotik proteinleri indükleyerek hücre koruyucu etki sağlarken; p65 (RelA) alt birimi yüksek düzeyde aktivasyonla pro-apoptotik süreçleri tetikleyebilir.(Blondeau et al., 2001; Lanzillotta et al., 2015)

Ayrıca, NF- κ B eksitotoksisiteye karşı da önemli bir koruyucu faktör olarak tanımlanmıştır. p50 alt birimi eksik farelerde glutamat maruziyeti sonrası artmış kalsiyum yükü ve nöronal ölüm bildirilmiş; buna karşılık NF- κ B aktivasyonunun calbindin-D28k gibi sitoprotektif proteinleri artırarak glutamat toksisitesine karşı koruyucu etkiler oluşturduğu gösterilmiştir.(Cheng et al., 1994; Yu et al., 1999) Liang ve ark. ise serebral iskemide NF- κ B'nin Notch1 aracılığıyla Bcl-2 ekspresyonunu artırarak anti-apoptotik ve nöroprotektif etkiler sağladığını belirtmiştir.(Liang et al., 2019)

Bu bulgular ve literatürdeki destekleyici veriler doğrultusunda, çalışmamızda tedavi grubunda gözlenen NF- κ B artışı, bu molekülün yalnızca klasik proinflamatuvar süreçlerle ilişkili olmadığını; aynı zamanda, nöronal sağkalımı destekleyen ve nöroprotektif yanıtları aktive eden bir düzenleyici rol de üstlenebileceğini düşündürmektedir. NF- κ B aktivasyonu genellikle inflamatuvar bir yanıtla ilişkilendirilse de elde edilen veriler ışığında bu artışın bizim çalışmamızda, antienflamatuvar etkilerden çok, hücrenel düzeyde doku koruyucu ve rejeneratif mekanizmaların bir parçası olarak değerlendirilebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Serum TNF- α düzeyleri de gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. ISL tedavisi uygulanan Grup 4 ve Grup 5'te TNF- α düzeylerinde kısmi bir azalma eğilimi izlenmiş, ancak bu değişiklikler de istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır. Buna karşılık, doku TNF- α düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiş olup travma sonrası, Grup 2 ve Grup 3'te TNF- α düzeylerinde, Grup 1'e kıyasla anlamlı bir artış saptanmıştır. Bu artışa karşın, ISL uygulanan Grup 4 ve Grup 5'te TNF- α düzeyleri anlamlı şekilde azalmış, özellikle Grup 3 ile kıyaslandığında bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu doğrultuda, ISL tedavisi uygulanan gruplarda TNF- α düzeylerindeki belirgin azalma, ISL'nin antiinflamatuvar etkisini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda tedavi grubunda NF- κ B düzeylerinde artış gözlenmesine rağmen TNF- α düzeylerinin azalması, bu iki molekül arasındaki ilişkinin klasik inflamasyon modelinin ötesinde, hücresel bağlama ve düzenleyici mekanizmalara bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Klasik inflamasyon modelinde NF- κ B aktivasyonu genellikle TNF- α üretiminde artışa yol açsa da bu ilişki hücre tipi, alt birim kompozisyonu ve eş zamanlı aktif olan diğer yollarla modüle edilebilir. Örneğin, NF- κ B alt birimleri olan p50/p65 heterodimerleri proinflamatuvar genleri aktive ederken, p50/p50 homodimerleri transkripsiyonel olarak baskılayıcı olabilir (Elsharkawy et al., 2010; Guo et al., 2024) . Ayrıca, antioksidan yolların özellikle Nrf2/HO-1 ekseninin aktivasyonu, NF- κ B'nin TNF- α promotörüne bağlanmasını azaltarak proinflamatuvar genlerin seçici ekspresyonunu baskılayabilir. Bu tür çapraz modülasyon, NF- κ B sinyalinin tamamının aktivasyonu olmaksızın da spesifik genlerin ekspresyonunun azalmasını mümkün kılabilir.(Gao et al., 2022) Özetle, çalışmamızda gözlenen NF- κ B artışı, transkripsiyonel hedef seçiciliğinin değiştiğini ve ISL'nin sinyal yolları arasındaki bu ince regülasyonu düzeysel olarak etkilediğini göstermektedir.

Öte yandan, çalışmamızda TGF- β 1 düzeylerine ilişkin elde edilen bulgular da medulla spinalis hasarına verilen yanıtın değerlendirilmesinde önemli veriler sunmaktadır. Hem serum hem de doku düzeylerinde ölçülen TGF- β 1 konsantrasyonları, medulla spinalis hasarının varlığı ve uygulanan tedaviye bağlı olarak anlamlı farklılık göstermiştir. Grup 3'te TGF- β 1 düzeylerinin anlamlı şekilde azalması, sakrifikasyonun yapıldığı subakut dönemde TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin baskınlığı sonucu, TGF- β 1 gibi immün düzenleyici moleküllerin ekspresyonunun sınırlanmasıyla ilişkili değerlendirilebilir.(Ryu et al., 2012) Buna karşılık, özellikle yüksek doz ISL uygulanan Grup 5'te belirgin TGF- β 1 artışı gözlenmesi, ISL'nin inflamasyonu baskılayıcı ve rejeneratif süreçleri destekleyici etkilerini

yansıtmaktadır. Literatürde de bu durumu destekleyen bulgular mevcuttur. Ferbert ve arkadaşları tarafından medulla spinal yaralanması geçiren insanlarda yapılan çalışmada, TGF- β 1 düzeylerinin nörolojik iyileşme ile birlikte anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir. (Ferbert et al., 2017) Çalışmamızda tedavi grubunda gözlenen TGF- β 1 artışı, ISL'nin antiinflamatuvar yanıtı destekleyerek endojen iyileşme sürecini hızlandırdığını ve TGF- β 1'in bu süreçte nöroprotektif rol üstlenebileceğini düşündürmektedir.

5.3. Nöronal Rejenerasyon Üzerine Etkileri

TMSH'ye takiben gelişen sekonder süreçlerin yalnızca inflamatuvar mediatörlerle sınırlı kalmadığı, aynı zamanda rejeneratif mekanizmaların da etkilendiği bilinmektedir. Bu süreçte BDNF nöronal sağkalım ve aksonal rejenerasyonun düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır.(Park & Poo, 2012)

Çalışmamızda hem serum hem de spinal doku düzeylerinde BDNF konsantrasyonları incelenmiş, elde edilen bulgular sekonder sürecin biyokimyasal yansımalarını destekler nitelikte olmuştur. Travma grubu olan Grup 3'te serum BDNF düzeyleri, sağlıklı kontrol grubu olan Grup 1'e göre anlamlı olarak azalmıştır. Bu azalma, travmaya bağlı sistemik nörotrofik destek kaybını göstermektedir. ISL uygulanan Grup 4 ve özellikle yüksek doz uygulanan Grup 5'te serum BDNF düzeylerinde artış izlenmiş, bu artış Grup 3 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç, ISL'nin sistemik düzeyde nörotrofik destek sağlayabileceğine işaret etmektedir.

Doku düzeyindeki BDNF analizleri, bu bulguları daha güçlü biçimde desteklemiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup, cerrahi stresin etkili olduğu Grup 2'de BDNF düzeylerinde anlamlı düşüş gözlenmiş, bu azalma travmatik hasar uygulanan Grup 3'te daha da belirginleşmiştir. Buna karşın, ISL uygulanan Grup 4 ve Grup 5'te spinal doku BDNF düzeyleri anlamlı şekilde artmıştır. Bu artış, ISL'nin doku düzeyinde de nörorejeneratif süreçleri desteklediğini göstermektedir.

BDNF, yalnızca bir nörotrofik destek molekülü değil, aynı zamanda aktiviteye bağlı sinaptik plastisiteyi modüle eden ve nöronal iyileşmeyi hızlandıran bir mediatördür.(Vilar & Mira, 2016) Deneysel spinal kord hasarı modellerinde BDNF'nin eksikliği, motor fonksiyon iyileşmesinin belirgin şekilde gecikmesine yol açmaktadır.(B. K. Kwon et al., 2002)

ISL'nin BDNF düzeylerini arttırıcı etkisi, daha önce Parkinson hastalığı modeli kullanılan çalışmalarda da gösterilmiştir. Bai ve arkadaşları, ISL tedavisinin substantia

nigra'da BDNF ekspresyonunu artırarak dopamin nöronlarının dejenerasyonunu azalttığını ve motor fonksiyonları iyileştirdiğini bildirmiştir.(Bai et al., 2023)

Bu bağlamda değerlendirildiğinde, çalışmamızda hem serum hem de spinal kord dokusunda saptanan BDNF düzeylerinin artışı, ISL'nin nöroprotektif ve nörorejeneratif etkilerinin biyokimyasal bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Bu bulgular, ISL'nin yalnızca inflamasyonu baskılamadığı, aynı zamanda nöronal iyileşme süreçlerini desteklediğini ve TMSH'ye karşı potansiyel bir terapötik ajan olabileceğini düşündürmektedir.

5.4. Histopatolojik Hasar ve Apoptoz Üzerine Etkileri

TMSH sonrası gelişen sekonder hasarlanma sürecinde hücresel düzeyde nöronal dejenerasyon, ödem, vasküler bozulma ve apoptoz gibi yıkıcı olaylar meydana gelir. Bu süreçlerde glial hücre aktivasyonu, nöronal kayıp ve miyelin dejenerasyonu, morfolojik düzeyde belirgin histopatolojik bozulmalara yol açmaktadır.(Rowland et al., 2008) Bu çalışmada, spinal kord dokusunda hematoksilen-eozin (HE) boyama ile elde edilen histopatolojik skorlar ve TUNEL yöntemi ile değerlendirilen apoptoz düzeyleri, deney grupları arasında karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.

Histopatolojik değerlendirmelerde, travmatik hasar uygulanan Grup 3'te belirgin vakuolizasyon, ödem, nöron nekrozu ve aksonal dejenerasyon bulguları saptanmış, bu grup tüm gruplar arasında en yüksek histopatolojik skora sahip olmuştur. Bu bulgular, spinal travmanın sekonder patolojisinde öne çıkan yapısal tahribatı yansıtmaktadır. ISL uygulanan Grup 4 ve Grup 5'te ise bu parametrelerin şiddetinde anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir. Özellikle Grup 5'te hem gri hem de beyaz cevherde hasar düzeyinin hafiflediği izlenmiş, bu da ISL'nin dokusal düzeyde koruyucu etkilerini desteklemektedir. Glial hücre aktivitesindeki artışın Grup 3'te daha belirgin olması, reaktif gliosisin ve ikincil inflamatuvar yanıtın daha aktif olduğunu göstermektedir.

TUNEL analizi, apoptotik hücre düzeylerinin objektif olarak belirlenmesinde önemli bir yöntemdir. Çalışmamızda, Grup 3 ve Grup 4'te TUNEL pozitif hücre sayısında anlamlı artış saptanmıştır; bu da spinal travma sonrası apoptozun yoğunlaştığını göstermektedir. Ancak Grup 5'te apoptotik hücre oranında anlamlı bir azalma gözlenmiş, bu bulgu yüksek doz ISL'nin nöronal hücre ölümü üzerindeki koruyucu etkisini ortaya koymuştur. TUNEL pozitif hücrelerin yoğun olarak gri maddede lokalize olması, iskemik ve travmatik süreçlerin metabolik olarak daha aktif nöronal bölgeleri hedef aldığını desteklemektedir.

Literatürde de benzer şekilde, TMSH sonrası nöronal apoptozun genellikle hasarı izleyen 24–72 saat içerisinde belirginleştiği, inflamatuvar mediatörler ve oksidatif stres aracılığıyla apoptozun tetiklendiği bildirilmiştir.(Beattie et al., 2000) Literatürde, ISL'nin nöronal hücrelerdeki antiapoptotik etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Örneğin, travmatik beyin hasarı modeli üzerinde yapılan bir çalışmada, ISL tedavisinin proapoptotik Bax protein düzeylerini azalttığı ve antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-xL protein düzeylerini artırdığı rapor edilmiştir. (Liu et al., 2019)

Bu veriler ışığında değerlendirildiğinde, çalışmamızda ISL uygulamasının hem histopatolojik hasarı azalttığı hem de apoptoz oranını düşürdüğü saptanmıştır. Özellikle yüksek doz ISL uygulanan Grup 5'te bu koruyucu etkiler daha belirgin düzeyde ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar, ISL'nin TMSH'de yalnızca inflamasyon ve oksidatif stres üzerinde değil, aynı zamanda doku bütünlüğü ve hücresel yaşamın korunması üzerinde de olumlu etkiler oluşturduğunu göstermektedir.

5.5. Fonksiyonel Nörolojik İyileşme Üzerine Etkileri

TMSH sonrası motor fonksiyonlardaki değişim, zaman içerisinde değerlendirildiğinde özellikle erken dönemde (1. gün) belirgin bir nörolojik bozulmanın meydana geldiği görülmektedir. Çalışmamızda hem BBB hem de Modifiye Tarlov skorları kullanılarak yapılan değerlendirmelerde, travmatik gruplarda 1. gün itibarıyla 0. güne kıyasla anlamlı fonksiyon kayıpları saptanmıştır. Özellikle travma grubunda (Grup 3) bu fonksiyon kaybı daha belirgin olup, akut dönemdeki nörolojik disfonksiyonun şiddetini göstermektedir.

ISL tedavisinin nöroprotektif etkisi zamana bağlı olarak artan bir iyileşme eğilimi ile kendini göstermiştir. Özellikle 40 mg/kg dozunda ISL uygulanan Grup 5'te, 3. ve 7. günlerde hem BBB hem de Modifiye Tarlov skorlarında anlamlı yükselmeler izlenmiştir. Bu bulgular, ISL'nin sekonder hasar mekanizmalarını baskılayarak subakut fazdan itibaren nöronal iyileşmeyi desteklediğini düşündürmektedir.

One-Way ANOVA analizi, gruplar arasında da anlamlı düzeyde fonksiyonel farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Hem Modifiye Tarlov Skoru hem de BBB testleri, spinal travma sonrası motor fonksiyonlarda ciddi azalmalar olduğunu ve ISL tedavisinin bu kaybı anlamlı düzeyde hafiflettiğini göstermiştir. Düşük doz ISL verilen Grup 4'te de travma grubuna kıyasla kısmi bir iyileşme gözlenmiş, ancak bu iyileşme yüksek doz ISL uygulanan Grup 5 kadar belirgin olmamıştır. Bulgularımız, ISL'nin merkezi sinir sistem hasarlarına karşı koruyucu etkilerini destekleyen literatürle örtüşmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu deneysel çalışmada, ratlarda oluşturulan TMSH modelinde, ISL tedavisinin fonksiyonel, biyokimyasal ve histopatolojik düzeydeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma beş gruptan oluşmaktadır: Grup 1, herhangi bir cerrahi veya farmakolojik müdahale uygulanmamış intakt kontrol grubunu; Grup 2, yalnızca laminektomi yapılarak cerrahi stres oluşturulmuş sham grubunu; Grup 3, TMSH oluşturulduktan sonra DMSO uygulanmış travma grubunu; Grup 4, TMSH sonrasında düşük doz ISL (20 mg/kg) uygulanan tedavi grubunu; Grup 5 ise TMSH sonrasında yüksek doz ISL (40 mg/kg) uygulanan tedavi grubunu temsil etmektedir.

TMSH sonrası yapılan fonksiyonel değerlendirmelerde BBB ve Modifiye Tarlov testleriyle yapılan nörolojik skorlamalarda, ISL tedavisi (Grup 4-Grup 5) özellikle 3. günden itibaren iyileşme eğilimi göstermeye başlamış, ancak istatistiksel olarak anlamlı fonksiyonel iyileşme 7. gün itibarıyla belirginleşmiştir. Bu zaman noktası, medulla spinalis hasarında subakut faza karşılık gelmektedir. ISL'nin bu dönemde artan etkinliği, akut inflamatuvar cevabın ardından başlayan rejeneratif süreçleri desteklediğini ve sekonder hasar mekanizmalarını baskılayarak fonksiyonel kazanımı artırdığını göstermektedir.

Ayrıca biyokimyasal analizler, ISL tedavisinin özellikle yüksek doz uygulanan grupta (Grup 5), TMSH'ye karşı belirgin bir düzenleyici etki gösterdiğini ortaya koymuştur. ISL uygulaması, TNF- α düzeylerini anlamlı şekilde azaltarak antiinflamatuvar etki göstermiş ve NF- κ B düzeylerinde artış saptanmıştır. Bu durum, NF- κ B'nin sadece proinflamatuvar değil, aynı zamanda hücre sel onarım ve nöronal sağ kalım süreçlerini düzenleyen bir medyatör olarak rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, antiinflamatuvar ve nörotrofik yanıtın göstergeleri olan TGF- β 1 ve BDNF düzeylerinde anlamlı artış izlenmiştir. Oksidatif stres parametreleri değerlendirildiğinde, TOS düzeylerinde anlamlı azalma, TAS düzeylerinde ise belirgin artış gözlenmiş olup, bu durum ISL'nin antioksidan savunmayı etkin biçimde güçlendirdiğini göstermektedir. Bulgular, ISL'nin inflamasyonu dengeleyici, oksidatif hasarı azaltıcı ve rejeneratif süreçleri destekleyici potansiyel bir nöroprotektif ajan olduğunu ortaya koymaktadır.

Histopatolojik incelemelerde ise travma sonrası Grup 3'te belirgin ödem, vasküler hasar, nöronal dejenerasyon, glial reaktivite ve artmış apoptoz gözlenmiştir. Buna karşın: ISL tedavisi uygulanan Grup 4 ve özellikle Grup 5'te, histopatolojik hasarın önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır. Grup 5'te apoptotik hücre sayısı anlamlı düzeyde azalmıştır, bu

durumlar ISL'nin doku bütünlüğünün daha iyi korunduğu, nöronal yoğunluğun daha yüksek olduğu ve inflamatuvar infiltrasyonun azaldığını aynı zamanda antiapoptotik etkilerini desteklemektedir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler doğrultusunda ISL, medulla spinalis hasarında antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik ve nöronal rejenerasyon etkileriyle güçlü bir nöroprotektif profil ortaya koymuştur. Bu etkiler doz bağımlı olarak artmakta ve özellikle subakut fazda belirginleşmektedir. Hem fonksiyonel hem de doku düzeyinde anlamlı iyileşme sağlayan ISL, terapötik ajan adayı olarak değerlendirilmelidir. Ancak; uzun dönemli etki analizleri yapılmalı ve daha geniş örneklemlerle zaman serili deneysel çalışmalar yapılmalıdır.

Literatürde daha önce serebral iskemik hasar, subaraknoid kanama, epilepsi ve travmatik beyin hasarı gibi çeşitli merkezi sinir sistemi patolojilerinde ISL'nin faydalı etkileri gösterilmiş olmakla birlikte, travmatik medulla spinalis hasarı modelinde ISL'nin etkileri doğrudan değerlendirilmemiştir. Bu yönüyle çalışmamız, ISL'nin travmatik medulla spinalis hasarında proinflamatuvar yanıtı baskılayarak, oksidatif stresi azaltarak ve antiapoptotik yolları modüle ederek nöroprotektif etki gösterebileceğini ortaya koymakta; aynı zamanda spinal kord travması tedavisinde potansiyel farmakolojik ajanlara yönelik gelecekteki çalışmalara öncülük etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ackery A, Tator C, Krassioukov A. A global perspective on spinal cord injury epidemiology. *J Neurotrauma*. 2004;21(10):1355–70.
2. Ahuja CS, Nori S, Tetreault L, Wilson J, Kwon B, Harrop J, et al. Traumatic spinal cord injury - Repair and regeneration. *Clin Neurosurg*. 2017;80(3):S22–90.
3. Anjum A, Yazid MD, Daud MF, Idris J, Hwei Ng AM, Naicker AS, et al. Spinal Cord Injury: Pathophysiology, Multimolecular Interactions, and Underlying Recovery Mechanisms. *Int J Mol Sci*. 2020;21(20):7533.
4. Arnold PM, Citron BA, Ameenuddin S, et al. Caspase-3 inhibition is neuroprotective after spinal cord injury [abstract]. *J Neurochem*. 2000.
5. Auyeung KKW, Ko JKS. Novel herbal flavonoids promote apoptosis but differentially induce cell cycle arrest in human colon cancer cell. *Investig New Drugs*. 2010;28(1):1–13.
6. Bai Y, Zhou J, Zhu H, Tao Y, Wang L, Yang L, Wu H, Huang F, Shi H, Wu X. Isoliquiritigenin inhibits microglia-mediated neuroinflammation in models of Parkinson's disease via JNK/AKT/NFκB signaling pathway. *Phytother Res*. 2023 Mar;37(3):848–859. doi: 10.1002/ptr.7665. PMID: 36484427.
7. Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(5):361–71.
8. Banik NL, Shields DC, Ray S, Davis B, Matzelle D, Wilford G, et al. Role of calpain in spinal cord injury: Effects of calpain and free radical inhibitors. *Ann N Y Acad Sci*. 1998;844(1):131–7.
9. Barbiellini Amidei C, Salmaso L, Bellio S, Saia M. Epidemiology of traumatic spinal cord injury: a large population-based study. *Spinal Cord*. 2022;60(9):812–9. doi:10.1038/s41393-022-00795-w.
10. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*. 1995;12(1):1–21.
11. Beattie MS, Farooqui AA, Bresnahan JC. Review of current evidence for apoptosis after spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2000 Oct;17(10):915–25. doi: 10.1089/neu.2000.17.915. PMID: 11063057.
12. Beckman JS. Peroxynitrite versus hydroxyl radical: the role of nitric oxide in superoxide-dependent cerebral injury. *Ann N Y Acad Sci*. 1994.
13. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors*. 2004;22(3):123–31.

14. Blight AR. Effects of silica on the outcome from experimental spinal cord injury: Implication of macrophages in secondary tissue damage. *Neuroscience*. 1994;60(1):263–73.
15. Blondeau N, Widmann C, Lazdunski M, Heurteaux C. Activation of the nuclear factor-kappaB is a key event in brain tolerance. *J Neurosci*. 2001 Jul 1;21(13):4668–77. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-13-04668.2001. PMID: 11425894; PMCID: PMC6762345
16. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*. 2008;214(2):149–60.
17. Brewer KL, Bethea JR, Yezierski RP. Neuroprotective effects of interleukin-10 following excitotoxic spinal cord injury. *Exp Neurol*. 1999.
18. Brown AK, Papaemmanouil A, Bhowruth V, Bhatt A, Dover LG, Besra GS. Flavonoid inhibitors as novel antimycobacterial agents targeting Rv0636, a putative dehydratase enzyme involved in *Mycobacterium tuberculosis* fatty acid synthase II. *Microbiology*. 2007;153(10):3314–22.
19. Büyükkımacı S, Ofluoğlu E, Toplamaoğlu H. Spinal Kord Tarihi. *Sinir Sistemi Cerrahisi Derg*. 2008.
20. Cardenas DD, Hoffman JM, Kirshblum S, McKinley W. Etiology and incidence of rehospitalization after traumatic spinal cord injury: a multicenter analysis. *Arch Phys Med Rehabil*. 2004.
21. Chen G, Xu H, Wu Y, Han X, Xie L, Zhang G, et al. Myricetin suppresses the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells and inhibits neointimal hyperplasia via suppressing TGFBR1 signaling pathways. *Phytomedicine*. 2021;51.
22. Cheng B, Christakos S, Mattson MP. Tumor necrosis factors protect neurons against metabolic-excitotoxic insults and promote maintenance of calcium homeostasis. *Neuron*. 1994 Jan;12(1):139–53. doi: 10.1016/0896-6273(94)90159-7. PMID: 7507336.
23. Cohen J, Alan N, Zhou J, Hamilton DK. The 100 most cited articles in metastatic spine disease. *Neurosurg Focus*. 2016;41(2).
24. Cuendet M, Oteham CP, Moon RC, Pezzuto JM. Quinone reductase induction as a biomarker for cancer chemoprevention. *J Nat Prod*. 2006;69(3):460–3.
25. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*. 2001;426(1–2):1–10.
26. Dajas F, Rivera-Megret F, Blasina F, Arredondo F, Abin-Carriquiry JA, Costa G, et al. Neuroprotection by flavonoids. *Braz J Med Biol Res*. 2003.

27. Dai JL, Lin Y, Yuan YJ, Xing ST, Xu Y, Zhang QH, et al. Regulatory effect of neuroglobin in the recovery of spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.* 2019.
28. Di Carlo G, Autore G, Izzo AA, Maiolino P, Mascolo N, Viola P, et al. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. *J Pharm Pharmacol.* 1993.
29. Doble A. The role of excitotoxicity in neurodegenerative disease: Implications for therapy. *Pharmacol Ther.* 1999;81(3):163–221.
30. Donnelly DJ, Popovich PG. Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration and functional recovery after spinal cord injury. *Exp Neurol.* 2008;209(2):378–88.
31. Dresselhaus EC, Meffert MK. Cellular specificity of NF- κ B function in the nervous system. *Front Immunol.* 2019 May 9;10:1043. doi: 10.3389/fimmu.2019.01043. PMID: 31143184; PMCID: PMC6520659.
32. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, et al. Acute spinal cord injury, part I: Pathophysiologic mechanisms. *Clin Neuropharmacol.* 2001;24(5):254–64.
33. Eldadah BA, Faden AI. Caspase pathways, neuronal apoptosis, and CNS injury. *J Neurotrauma.* 2000.
34. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4):495–516.
35. Elsharkawy AM, Oakley F, Lin F, Packham G, Mann DA, Mann J. The NF-kappaB p50:p50:HDAC-1 repressor complex orchestrates transcriptional inhibition of multiple pro-inflammatory genes. *J Hepatol.* 2010 Sep;53(3):519–27. doi: 10.1016/j.jhep.2010.03.025. PMID: 20579762; PMCID: PMC3098379.
36. Epstein FH, Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N Engl J Med.* 1994;330(9):613–22.
37. Farooque M, Isaksson J, Olsson Y. Improved recovery after spinal cord injury in neuronal nitric oxide synthase-deficient mice but not in TNF- α -deficient mice. *J Neurotrauma.* 2001;18(1):105–14.
38. Feldman RP, Goodrich JT. The Edwin Smith Surgical Papyrus. *Childs Nerv Syst.* 1999;15(6–7):281–4.
39. Fehér G, Fehér V, Nagy Z, Bakó G. Early neuroprotective effects of methylprednisolone and GM1 ganglioside in spinal cord ischemia. *Acta Neurochir.* 2000.

40. Fehlings MG, Tator CH, Linden RD. The relationships among the severity of spinal cord injury, motor and somatosensory evoked potentials and spinal cord blood flow. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1989;74(4):241–59.
41. Ferbert T, Child C, Graeser V, Swing T, Akbar M, Heller R, et al. Tracking spinal cord injury: Differences in cytokine expression of IGF-1, TGF- β 1, and sCD95L can be measured in blood samples and correspond to neurological remission in a 12-week follow-up. *J Neurotrauma.* 2017 Feb;34(3):607–14. doi: 10.1089/neu.2015.4294. Epub 2016 Oct 12. PMID: 27533262.
42. Fu Y, Jia J. Isoliquiritigenin confers neuroprotection and alleviates amyloid- β 42-induced neuroinflammation in microglia by regulating the Nrf2/NF- κ B signaling. *Front Neurosci.* 2021;15:33642990.
43. Gao W, Guo L, Yang Y, Wang Y, Xia S, Gong H, Zhang BK, Yan M. Dissecting the crosstalk between Nrf2 and NF- κ B response pathways in drug-induced toxicity. *Front Cell Dev Biol.* 2022 Feb 2;9:809952. doi: 10.3389/fcell.2021.809952. PMID: 35186957; PMCID: PMC8847224.
44. Goto N, Otsuka N. Development and anatomy of the spinal cord. *Neuropathology.* 1997;17(1):25–31.
45. Golestani A, Shobeiri P, Sadeghi-Naini M, Jazayeri SB, Maroufi SF, Ghodsi Z, et al. Epidemiology of traumatic spinal cord injury in developing countries from 2009 to 2020: A systematic review and meta-analysis. *Neuroepidemiology.* 2022;56(4):219–39.
46. Guo Q, Jin Y, Chen X, Ye X, Shen X, Lin M, Zeng C, Zhou T, Zhang J. NF- κ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications. *Signal Transduct Target Ther.* 2024 Mar 4;9(1):53. doi: 10.1038/s41392-024-01757-9. PMID: 38433280; PMCID: PMC10910037
47. Hayden MS, Ghosh S. NF- κ B in immunobiology. *Cell Res.* 2011;21(2):223–44.
48. Hermes T de A, Jarry V de M, Reis F, Minatel E. Anatomy and imaging of the spinal cord: An overview. *Semin Ultrasound CT MR.* 2023;44(5):400–7.
49. Hirschberg DL, Yoles E, Belkin M, Schwartz M. Inflammation after axonal injury has conflicting consequences for recovery of function: Rescue of spared axons is impaired but regeneration is supported. *J Neuroimmunol.* 1994;50(1):9–16.
50. Hung SY, Chen JL, Tu YK, Tsai HY, Lu PH, Jou IM, Mbuyisa L, Lin MW. Isoliquiritigenin inhibits apoptosis and ameliorates oxidative stress in rheumatoid arthritis chondrocytes through the Nrf2/HO-1-mediated pathway. *Biomed*

- Pharmacother.* 2024 Jan;170:116006. doi: 10.1016/j.biopha.2023.116006. PMID: 38091640.
51. Jhanji V, Liu H, Law K, Yau-Wing Lee V, Huang SF, Pang CP, et al. Isoliquiritigenin from licorice root suppressed neovascularisation in experimental ocular angiogenesis models. *Br J Ophthalmol.* 2011;95(9):1309–15.
 52. Kaltschmidt B, Kaltschmidt C. NF-kappaB in the nervous system. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(3).
 53. Kang Y, Ding H, Zhou H, Wei Z, Liu L, Pan D, et al. Epidemiology of worldwide spinal cord injury: A literature review. *J Neurorestoratol.* 2017;6:1–9.
 54. Kim GM, Xu J, Xu J, Song SK, Yan P, Ku G, et al. Tumor necrosis factor receptor deletion reduces nuclear factor- κ B activation, cellular inhibitor of apoptosis protein 2 expression, and functional recovery after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci.* 2001;21(17):6617.
 55. Klusman I, Schwab ME. Effects of pro-inflammatory cytokines in experimental spinal cord injury. *Brain Res.* 1997;762(1–2):173–84.
 56. Koyanagi I, Tator CH, Theriault E. Silicone rubber microangiography of acute spinal cord injury in the rat. *Neurosurgery.* 1993;32(2):260–8.
 57. Krauss WE. Vascular anatomy of the spinal cord. *Neurosurg Clin N Am.* 1999;10(1):9–15.
 58. Kwon H, Choi Y, Choi J, Kang S, Lee S, Lim SS, et al. Blockade of cytokine-induced endothelial cell adhesion molecule expression by licorice isoliquiritigenin through NF- κ B signal disruption. *Exp Biol Med (Maywood).* 2007.
 59. Lanzillotta A, Porrini V, Bellucci A, Benarese M, Branca C, Parrella E, Spano PF, Pizzi M. NF- κ B in innate neuroprotection and age-related neurodegenerative diseases. *Front Neurol.* 2015 May 20;6:98. doi: 10.3389/fneur.2015.00098. PMID: 26042083; PMCID: PMC4438602.
 60. Lee YS, Kim SH, Jung SH, Kim JK, Park CH, Lim SS. Aldose reductase inhibitory compounds from *Glycyrrhiza uralensis*. *Biol Pharm Bull.* 2010;33(5):917–21.
 61. Li S, Stys PK. Na⁺-K⁺-ATPase inhibition and depolarization induce glutamate release via reverse Na⁺-dependent transport in spinal cord white matter. *Neuroscience.* 2001;107(4):675–83.
 62. Li W, Sun YN, Yan XT, Yang SY, Kim S, Lee YM, et al. Flavonoids from *Astragalus membranaceus* and their inhibitory effects on LPS-stimulated pro-inflammatory

- cytokine production in bone marrow-derived dendritic cells. *Arch Pharm Res.* 2014;37(2):186–92.
63. Li Z, Hogan EL, Banik NL. Role of calpain in spinal cord injury: Increased m-calpain immunoreactivity in spinal cord after compression injury in the rat. *Neurochem Int.* 1995;27(4–5):425–32.
64. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.* 2018;13:757–72.
65. Lifshutz J, Colohan A. A brief history of therapy for traumatic spinal cord injury. *Neurosurg Focus.* 2004;16(1):1–8.
66. Liu J, Xiong X, Sui Y. Isoliquiritigenin attenuates neuroinflammation in traumatic brain injury in young rats. *Neuroimmunomodulation.* 2019;26(2):102–110. doi: 10.1159/000495467. PMID: 30783039.
67. Liu JQ, Zhao XT, Qin FY, Zhou JW, Ding F, Zhou G, Zhang XS, Zhang ZH, Li ZB. Isoliquiritigenin mitigates oxidative damage after subarachnoid hemorrhage in vivo and in vitro by regulating Nrf2-dependent signaling pathway via targeting of SIRT1. *Phytomedicine.* 2022 Oct;105:154262. doi: 10.1016/j.phymed.2022.154262. PMID: 35896045.
68. Lu B, Nagappan G, Guan X, Nathan PJ, Wren P. BDNF-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci.* 2013;14(6):401–16.
69. Marketos SG, Skiadas PK. Galen: a pioneer of spine research. *Spine (Phila Pa 1976).* 1999;24(22):2358–62.
70. McCormick PC, Stein BM. Functional anatomy of the spinal cord and related structures. *Neurosurg Clin N Am.* 1990;1(3):469–89.
71. Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF- β : the master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2016;12(6):325–38.
72. Moalem G, Yoles E, Leibowitz-Amit R, Muller-Gilor S, Mor F, Cohen IR, et al. Autoimmune T cells retard the loss of function in injured rat optic nerves. *J Neuroimmunol.* 2000;106(1–2):189–97.
73. Morioka N, Tokuhara M, Harano S, Nakamura Y, Nishi M, Hisaoka-Nakashima K, et al. Neuropathic pain and the neuroinflammation induced by spinal cord injury are reduced by the flavonoid isoliquiritigenin. *Neuropharmacology.* 2020;162:107813.
74. Morioka N, Harano S, Tokuhara M, Abdin MJ, Zhang FF, Hisaoka-Nakashima K, et al. Isoliquiritigenin attenuates neuropathic pain in a mouse model of partial sciatic

- nerve ligation via the inhibition of inflammation and oxidative stress. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3):1282.
75. Mount C, Downton C. Dementia: A diagnosis not to be missed. *Br J Gen Pract*. 2006;56(525):621–3.
76. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature*. 2002;420(6917):846–52.
77. Öztürk Ö, Börcek AÖ. Omurga ve Omurilik Embriyolojisi: Nöral Tüp Defektlerinin Gelişim Süreci. *Spinal ve Periferik Sinir Cerrahisi Bülteni*. 2024;103(1):002–6.
78. Vilar M, Mira H. Regulation of neurogenesis by neurotrophins during adulthood: expected and unexpected roles. *Front Neurosci*. 2016 Feb 9;10:26. doi: 10.3389/fnins.2016.00026. PMID: 26903794; PMCID: PMC4746328.
79. Park E, Velumian AA, Fehlings MG. The role of excitotoxicity in secondary mechanisms of spinal cord injury: a review with an emphasis on the implications for white matter degeneration. *J Neurotrauma*. 2004;21(6):754–74.
80. Park H, Poo MM. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci*. 2013 Jan;14(1):7–23. doi: 10.1038/nrn3379. PMID: 23254191.
81. Park SY, Jin ML, Kim YH, Kim Y, Lee SJ. Anti-inflammatory effects of flavonoids in LPS-stimulated microglia. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;425(2):256–61.
82. Popovich PG. Neuroimmunology of traumatic spinal cord injury: a brief history and overview. *Exp Neurol*. 2014;258:1–4.
83. Popovich PG, Wei P, Stokes BT. Cellular inflammatory response after spinal cord injury in Sprague-Dawley and Lewis rats. *J Comp Neurol*. 1997;377(3):443–64.
84. Rice AS, Farquhar-Smith WP, Bridges D, Brooks JW. Cannabinoids and pain. In: Dostorovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M, editors. *Proceedings of the 10th World Congress on Pain*; 2002 Aug 17–22; San Diego, CA. Seattle (WA): IASP Press; c2003. p. 437–68.
85. Roguskie JM. The role of *Pseudomonas aeruginosa* 1244 pilin glycan in virulence [master's thesis]. Pittsburgh (PA): Duquesne University; 2005. 111 p.
86. Ryu KY, Cho GS, Piao HZ, Kim WK. Role of TGF- β in survival of phagocytizing microglia: autocrine suppression of TNF- α production and oxidative stress. *Exp Neurobiol*. 2012 Dec;21(4):151–7. doi: 10.5607/en.2012.21.4.151. PMID: 23319875; PMCID: PMC3538179.

87. Schaal SM, Chelluboina B, Fischer J, Hattiangady B, Shetty AK. Mechanisms of neuroprotection by physical activity in traumatic brain injury. *Front Cell Neurosci.* 2020;14:100.
88. Schumacher M, Mattern C, Ghomari A, Oudinet JP, Liere P, Labombarda F, et al. Revisiting the roles of progesterone and allopregnanolone in the nervous system: Resurgence of the progesterone receptors. *Prog Neurobiol.* 2014;113:6–39.
89. Schwaninger M, Inta I, Herrmann O. NF-kappaB signaling in cerebral ischemia. *Biochem Soc Trans.* 2006;34(Pt 6):1291–4.
90. Shibahashi K, Nishida M, Okura Y, Hamabe Y. Epidemiological state, predictors of early mortality, and predictive models for traumatic spinal cord injury: a multicenter nationwide cohort study. *Spine (Phila Pa 1976).* 2019;44(7):479–87.
91. Singh R, Munakomi S. Embryology, Neural Tube. StatPearls [Internet]. 2023 [cited 2025 Apr 23]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542285/>
92. Smith JS, Shaffrey CI, Sansur CA, Berven SH, Fu KM, Broadstone PA, et al. Rates of infection after spine surgery based on 108,419 procedures: A report from the Scoliosis Research Society Morbidity and Mortality Committee. *Spine (Phila Pa 1976).* 2011;36(7):556–63.
93. Smith KJ, Hall SM. Central nervous system demyelination: the role of reactive oxygen and nitrogen species. *Brain Pathol.* 1996;6(2):115–32.
94. Smith PD, Puskas F, Davies JE, MacLean NA, Wiberg M, Blakemore WF, et al. A functional comparison of peripheral and central nerve grafts in the repair of the injured spinal cord. *Exp Neurol.* 2002;176(2):276–87.
95. Sun Y, Li W, Huang Y, Yan XT, Yang SY, Lee YM, et al. Isoliquiritigenin, a flavonoid from *Glycyrrhiza uralensis*, attenuates LPS-induced acute lung injury in mice. *Int Immunopharmacol.* 2014;21(2):406–13.
96. Kwon BK, Liu J, Messerer C, Kobayashi NR, McGraw J, Oschipok L, Tetzlaff W. Survival and regeneration of rubrospinal neurons 1 year after spinal cord injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Mar 5;99(5):3246–51. doi: 10.1073/pnas.052308899. Epub 2002 Feb 26. PMID: 11867727; PMCID: PMC122504.
97. Tak PP, Firestein GS. NF-κB: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest.* 2001;107(1):7–11.
98. Tanaka H, Yamashita T, Asada T, Mizutani K, Tanaka K, Hongo K, et al. Prevention of apoptotic cell death and promotion of functional recovery after spinal cord injury by brain-derived neurotrophic factor. *J Neurosurg.* 2000;93(1 Suppl):76–83.

99. Teng YD, Lavik EB, Qu X, Park KI, Ourednik J, Zurakowski D, et al. Functional recovery following traumatic spinal cord injury mediated by a unique polymer scaffold seeded with neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(5):3024–9.
100. Tewari D, Nabavi SF, Nabavi SM, Sureda A, Farooqi AA, Atanasov AG, et al. Targeting activator protein 1 signaling pathway by bioactive natural agents: possible therapeutic strategy for cancer prevention and intervention. *Pharmacol Res*. 2018;128:366–75.
101. Thuret S, Moon LDF, Gage FH. Therapeutic interventions after spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7(8):628–43.
102. Ulas M, Argadal OG. Trace element, antioxidant and oxidant levels in spinal cord injury: different perspective on the effects of valproic acid. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2023;27(9):3892–905.
103. Vilar M, Mira H. Regulation of neurogenesis by neurotrophins during adulthood: expected and unexpected roles. *Front Neurosci*. 2016 Feb 9;10:26. doi: 10.3389/fnins.2016.00026. PMID: 26903794; PMCID: PMC4746328.
104. Wang LM, Yan Y, Zou LJ, Jing NH, Xu ZY. Moderate hypothermia prevents neural cell apoptosis following spinal cord ischemia in rabbits. *Cell Res*. 2005 May;15(5):387–93. doi: 10.1038/sj.cr.7290306. PMID: 15916725.
105. Wang Q, Sun AY, Simonyi A, Jensen MD, Shelat PB, Rottinghaus GE, et al. Neuroprotective mechanisms of curcumin against cerebral ischemia-induced neuronal apoptosis and behavioral deficits. *J Neurosci Res*. 2005;82(1):138–48.
106. Wu Q, Wu W, Fu B, Shi L, Wang X, Kuca K, et al. Role of microglia in neurological disorders and their potentials as a therapeutic target. *Mol Neurobiol*. 2020;57(1):424–42.
107. Yiannakopoulou E, Nikiteas N, Perrea D, Tsigris C. Minimally invasive surgery and oxidative stress response: what have we learned from animal studies? *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2013 Feb;23(1):25–8. doi: 10.1097/SLE.0b013e318278cf5f. PMID: 23386145.
108. Yu Z, Zhou D, Bruce-Keller AJ, Kindy MS, Mattson MP. Lack of the p50 subunit of nuclear factor-kappaB increases the vulnerability of hippocampal neurons to excitotoxic injury. *J Neurosci*. 1999 Oct 15;19(20):8856–65. doi: 10.1523/JNEUROSCI.19-20-08856.1999. PMID: 10516305; PMCID: PMC6782758.1

109. Yune TY, Lee JY, Jung GY, Kim SJ, Jiang MH, Kim YC, et al. Minocycline alleviates death of oligodendrocytes by inhibiting proinflammatory cytokines, and MAP kinases after spinal cord injury. *J Neurosci.* 2007;27(29):7751–61.
110. Zeng J, Chen Y, Ding R, Feng L, Fu Z, Yang S, et al. Isoliquiritigenin alleviates early brain injury after experimental intracerebral hemorrhage via suppressing ROS- and/or NF- κ B-mediated NLRP3 inflammasome activation by promoting Nrf2 antioxidant pathway. *J Neuroinflammation.* 2017;14(1):1–19.
111. Zhan C, Yang J. Protective effects of isoliquiritigenin in transient middle cerebral artery occlusion-induced focal cerebral ischemia in rats. *Pharmacol Res.* 2006 Mar;53(3):303–9. doi: 10.1016/j.phrs.2005.12.008. PMID: 16459097.
112. Zhu X, Liu J, Chen O, Xue J, Huang S, Zhu W, Wang Y. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of isoliquiritigenin in kainic acid-induced epileptic rats via the TLR4/MYD88 signaling pathway. *Inflammopharmacology.* 2019 Dec;27(6):1143–53. doi: 10.1007/s10787-019-00592-7. PMID: 31037573.