



T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL SPİNAL KORD HASARINDA CLİTORİA
TERNATEA (MAVİ KELEBEK SARMAŞIĞI)
EKSTRAKTININ NÖROPROTEKTİF VE TERAPÖTİK
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Melek SARAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Şule MELEK

BİNGÖL-2024



T.C
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**DENEYSEL SPİNAL KORD HASARINDA CLİTORİA
TERNATEA (MAVİ KELEBEK SARMAŞIĞI)
EKSTRAKTININ NÖROPROTEKTİF VE TERAPÖTİK
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Melek SARAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Şule MELEK

**Bu tez, Bingöl Üniversitesi BAP Birimi tarafından BAP-VF.2022.003 proje
numarası ile desteklenmiştir**

BİNGÖL-2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Cerrahisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Melek SARAÇ tarafından hazırlanan “*Deneysel Spinal Kord Hasarında Clitoria Ternatea (Mavi Kelebek Sarmaşığı) Ekstraktının Nöroprotektif ve Terapötik Etkisinin Araştırılması*” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: 16 /02/ 2024

Jüri bilgileri:

| S.No | Üye | Unvan, Adı SOYADI | Üniversite | İmza |
|------|--------------------|---------------------------|----------------------|------|
| 1 | Üye(Tez danışmanı) | Dr. Öğr. Üyesi Şule MELEK | Bingöl Üniversitesi | |
| 2 | Üye | Prof.Dr.Gültekin ATALAN | Erciyes Üniversitesi | |
| 3 | Üye | Dr.Öğr.ÜyesiSami ÜNSALDI | Bingöl Üniversitesi | |
| 4 | Üye | | | |
| 5 | Üye | | | |

ONAY:

Yukarıdaki jüri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilen bu çalışma Bingöl Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih vesayılı oturumunda alınanno' lu Yönetim Kurulu kararı gereğince onaylanmıştır.

.....

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bingöl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım “*Deneyisel Spinal Kord Hasarında Clitoria Ternatea (Mavi Kelebek Sarmaşığı) Ekstraktının Nöroprotektif ve Terapötik Etkisinin Araştırılması*” başlıklı “**Yüksek Lisans**” tezimin içindeki bütün bilgi, veri, doküman, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kuralları içerisinde elde ettiğimi, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, elde edilen verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum / kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı ve bu çalışmanın özgün olduğunu **beyan ederim.**

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimi bildiririm.

... /... 202..

İmza
Melek SARAÇ
Öğrenci

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her konuda destek olan ve yol gösteren tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Şule MELEK'e teşekkür ederim.

Çalışmamızda biyokimya sonuçlarının değerlendirilmesine katkı sağlayan Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN'a ve patoloji sonuçlarına yaptığı katkıdan dolayı Doç. Dr. Serdar ALTUN' teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve beni yüreklendiren sevgili eşim Suat SARAÇ'a teşekkür ederim.

Melek SARAÇ

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-------------|
| KABUL VE ONAY SAYFASI..... | İ |
| ETİK BEYAN..... | İİ |
| TEŞEKKÜR | İİİ |
| İÇİNDEKİLER | İV |
| SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | VI |
| TABLolar DİZİNİ..... | VII |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | VIII |
| ÖZET | X |
| ABSTRACT..... | XI |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1. Spinal Kord Yaralanmasının Tarihçesi | 2 |
| 2.2. Spinal Kord Embriyolojisi | 2 |
| 2.3. Spinal Kord Anatomisi | 3 |
| 2.4. Spinal Travma Modelleri | 5 |
| 2.4.1. Travmatik Yaralanma..... | 5 |
| 2.4.2. Non-Travmatik Yaralanma..... | 5 |
| 2.5. Spinal kordun Yaralanma Mekanizmaları | 5 |
| 2.5.1. Primer Hasar Mekanizması | 6 |
| 2.5.2. Sekonder Hasar Mekanizması | 7 |
| 2.6. Spinal Kord Yaralanmalarının Patofizyolojisi | 7 |
| 2.6.1. Serbest Radikal Kaynaklı Hasar | 8 |
| 2.6.2. Apoptoziz | 9 |
| 2.6.3. İmmun Yanıt..... | 10 |
| 2.6.4. Eksitoksisite..... | 10 |
| 2.6.5. Vasküler Değişiklikler | 11 |
| 2.7. Spinal Kord Yaralanmalarında Farmakoterapi..... | 12 |
| 2.7.1. Kortikosteroidler | 12 |
| 2.7.2. Gangliozidler | 14 |
| 2.7.3. Lazoroidler | 14 |

| | |
|---|-----------|
| 2.7.4. Opioid Reseptör Antagonistleri | 14 |
| 2.7.5. Kalsiyum Kanal Blokorleri..... | 15 |
| 2.7.6. Magnezyum | 15 |
| 2.7.7. Sodyum Kanal Blokorü | 16 |
| 2.8. Clitoria Ternatea | 16 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 18 |
| 3.1. Gruplar | 18 |
| 3.2. Anestezi..... | 19 |
| 3.3. Cerrahi işlem | 19 |
| 3.4. Spinal Kord Travmasının Oluşturulması | 21 |
| 3.5. Clitoria Ternatea Ekstraktının Hazırlanışı..... | 22 |
| 3.6. Postoperatif Analjezi ve Bakım..... | 22 |
| 3.7. Nörolojik Muayene Sonuçlarının Değerlendirilmesi..... | 22 |
| 3.8. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu | 23 |
| 3.9. Biyokimyasal Analizler | 23 |
| 3.10. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirme | 24 |
| 3.11. İstatistiksel Analiz | 24 |
| 4. BULGULAR | 25 |
| 4.1. Nörolojik Muayene Sonuçlarının Değerlendirilmesi..... | 25 |
| 4.2. Histopatolojik Bulgular | 25 |
| 4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular | 30 |
| 4.4. Biyokimyasal Bulgular | 35 |
| 5. TARTIŞMA | 36 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 40 |
| KAYNAKLAR | 41 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 49 |

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | | |
|------------|---|---|
| % | : | Yüzde |
| ATP | : | Adenozin trifosfat |
| BOS | : | Beyin omurilik sıvısı |
| C.TERNATEA | : | Clitoria ternatea |
| CA | : | Kalsiyum |
| CM | : | Santimetre |
| CT | : | Clitoria ternatea |
| DAB | : | Diaminobenzidine |
| DNA | : | Deoksiriboz nükleik asit |
| H | : | Hidrojen |
| K | : | Potasyum |
| LAM | : | Laminektomi |
| MDA | : | Malondialdehit |
| MG | : | Magnezyum |
| MP | : | Metilprednizolonun |
| MPSS | : | Metilprednizolon sodyum süksinat |
| MTS | : | Modifiye tarlov skalası |
| NA | : | Sodyum |
| O | : | Oksijen |
| OH | : | Hidroksil |
| PAT | : | Parmak açma testi |
| ROS | : | Reaktif oksijen türleri |
| SKT | : | Spinal kord travması |
| SPSS | : | Statistical Package for the Social Sciences |

TABLULAR DİZİNİ

| | Sayfa |
|--|--------------|
| Tablo 3.1. Modifiye Tarlov Skalası..... | 23 |
| Tablo 3.2. Parmak açma testi | 23 |
| Tablo 4.1. Deney gruplarının modifiye tarlov skalasının (MTS) karşılaştırılması | 25 |
| Tablo 4.2. Deney gruplarının parmak açma testinin (PAT) karşılaştırılması | 25 |
| Tablo 4.3. Spinal kord dokusunda tespit edilen MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı Grup I, Grup II, Grup III, Grup IV, Grup V | 35 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | Sayfa |
|--|--------------|
| Şekil 3.1. Sırt bölgesinin povidon iyot ile antisepsisinin sağlanması | 20 |
| Şekil 3.2. Dorsal Laminektomi Operasyonu ve Spinal Kordun Açığa Çıkarılması | 20 |
| Şekil 3.3. Spinal Kordun Üzerine Ağırlık Düşürme | 21 |
| Şekil 3.4. Cerrahi Alanın Dikişlerle Kapatılması | 22 |
| Şekil 4.1. Kontrol Grubu, Normal Serebellum ve Purkinje Hücreleri (Oklar) (H&E, 70 µm)..... | 26 |
| Şekil 4.2. Kontrol Grubu, Normal Serebellum ve Purkinje Hücreleri (Oklar) (H&E, 70 µm)..... | 26 |
| Şekil 4.3. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon (Oklar). Grup 2. (H&E, 70 µm). | 27 |
| Şekil 4.4. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon (Oklar). Grup 2. (H&E, 70 µm). | 27 |
| Şekil 4.5. Purkinje Hücrelerinde Nekroz (Oklar), Fagositoz Yolu ile Tamamen Yok Olan Purkinje Hücre Grup Lokalizasyonları (Ok Başları). Grup 3. (H&E, 70 µm). | 28 |
| Şekil 4.6. Purkinje Hücrelerinde Nekroz (Oklar), Fagositoz Yolu ile Tamamen Yok Olan Purkinje Hücre Grup Lokalizasyonları (Ok başları). Grup 3. (H&E, 70 µm). | 28 |
| Şekil 4.7. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon (Oklar). Grup 4. (H&E, 70 µm). | 29 |
| Şekil 4.8. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon ve Nekroz (Oklar). Grup 4. (H&E, 70 µm). | 29 |
| Şekil 4.9. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon ve Nekroz (Oklar). Grup 5. (H&E, 70 µm). | 30 |
| Şekil 4.10. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon ve Nekroz (Oklar). Grup 5. (H&E, 70 µm). | 30 |
| Şekil 4.11. Kontrol Grubu Serebellum, Caspase -3 Negatifliği. (IHC, 70 µm) | 31 |

| | |
|---|----|
| Şekil 4.12. Caspase -3 Negatifliği. Grup 2. (IHC, 70 µm)..... | 31 |
| Şekil 4.13. Güçlü Caspase -3 Pozitifliği . Grup 3. (IHC, 70 µm)..... | 32 |
| Şekil 4.14. Güçlü Caspase -3 Pozitifliği . Grup 3. (IHC, 70 µm)..... | 32 |
| Şekil 4.15. Caspase -3 Pozitif Purkinje Hücreleri (Oklar), Caspase-3 Negatif Purkinje Hücreleri (Ok Başları). Grup 4. (IHC, 70 µm)..... | 33 |
| Şekil 4.16. Zayıf Caspase -3 Pozitifliği . Grup 4. (IHC, 70 µm)..... | 33 |
| Şekil 4.17. Zayıf Caspase -3 Pozitifliği . Grup 5. (IHC, 70 µm)..... | 34 |
| Şekil 4.18. Zayıf Caspase -3 Pozitifliği . Grup 5. (IHC, 70 µm)..... | 34 |

ÖZET

Deneysel Spinal Kord Hasarında *Clitoria Ternatea* (Mavi Kelebek Sarmaşığı) Ekstraktının Nöroprotektif ve Terapotik Etkisinin Araştırılması

Bu çalışmada, travmatik spinal kord yaralanması sonrası ortaya çıkacak sekonder hasara karşı *Clitoria ternatea* ekstraktının nöroprotektif ve terapötik etkinliğinin ortaya konulması amaçlandı. Çalışma için 200-250 g ağırlığında 35 adet Wistar albino ırkı erkek rat rastgele olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Grup I: Kontrol Grubu bu gruptaki ratlara cerrahi bir işlem yapılmadı. Grup II: bu gruptaki ratlara sadece dorsal laminektomi yapıldı. Grup III: bu gruptaki ratlara dorsal laminektomi yapıldı ve ağırlık düşürülerek spinal kord hasarı oluşturuldu. Grup IV: bu gruptaki ratlara dorsal laminektomi ve ağırlık düşürme modeli oluşturulmadan 24 saat önce tek doz 200 mg/kg gavaj ile *Clitoria ternatea* ekstraktı verildi. Grup V: dorsal laminektomi uygulandı ve ağırlık düşürülerek spinal kord hasarı oluşturuldu. Tek doz 200 mg/kg gavaj ile *Clitoria ternatea* ekstraktı verildi. Postoperatif 24. saatin sonunda bütün ratlardan anestezi altında analizler için intrakardiyak kan alımıp sakrifiye edildikten sonra doku örnekleri alındı.

Grup III'de MDA düzeyinin istatistiksel açıdan anlamlı olarak ($p<0.01$; $p<0.05$) arttığı belirlenmiştir. MDA düzeyinde gözlemlenen bu artışın hasar oluşumunun bir göstergesi olduğu söylenebilir. Grup III'te artan MDA düzeyinin Grup IV ve Grup V'te azaldığı ($p>0.05$) biyokimyasal olarak belirlenmiştir.

Histopatolojik olarak grup III çalışmada en ağır patolojik lezyonların izlendiği gruptur. Grup IV ve Grup V'te yer yer dejenerasyon ve nekroz bulguları gözlenmiştir. Bu iki grupta gözlenen lezyonlar Grup III' e kıyasla hem şiddet hem yoğunluk bakımından daha düşük seviyededir. İmmunohistokimyasal olarak Grup III'de Caspase-3 pozitif hücre sayısı ve pozitif reaksiyon belirginliği istatistiksel olarak tüm gruplardan daha fazla olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak *Clitoria ternatea* ekstraktının laminektomi ile oluşturulan spinal kord hasarını önlemede etkili olabileceği fakat bu sonucun farklı farmakolojik çalışmalarla desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Spinal kord hasarı, *Clitoria Ternatea*, Apoptozis, Rat, Travma

ABSTRACT

Investigation of Neuroprotective and Therapeutic Effect of *Clitoria Ternatea* (Blue Butterfly Pea) Extract in Experimental Spinal Cord Injury

The aim of this study was to investigate the neuroprotective and therapeutic effects of *Clitoria ternatea* extract against secondary damage following traumatic spinal cord injury. The study involved 35 male Wistar albino rats weighing 200-250 g, randomly divided into 5 groups. Group I served as the control group, No surgical procedure was performed. Group II underwent only dorsal laminectomy, while Group III underwent both dorsal laminectomy and spinal cord injury through weight reduction. Group IV received a single dose of 200 mg/kg of *Clitoria ternatea* extract via gavage 24 hours prior to the creation of the weight reduction model through dorsal laminectomy. In Group V, the weight reduction model was created through dorsal laminectomy and spinal cord injury was induced by lowering the weight. Additionally, Group V received a single dose of 200 mg/kg of *Clitoria ternatea* extract via gavage. Tissue samples were collected from all rats at the end of the 24th postoperative hour after intracardiac blood was obtained and the rats were sacrificed under anesthesia for analysis.

It was determined that the MDA level increased statistically significantly ($p < 0.01$; $p < 0.05$) in Group III. It can be said that this increase in MDA level is an indicator of damage formation. It was biochemically determined that the MDA level increased in Group III and decreased in Groups IV and Group V ($p > 0.05$).

In the study, Group III exhibited the most severe pathological lesions, while Groups IV and V showed lower severity and intensity of degeneration and necrosis findings. Immunohistochemically, the number of Caspase-3 positive cells and the positive reaction specificity were statistically higher in Group III than in all other groups.

It is believed that *Clitoria ternatea* extract may prevent spinal cord damage caused by laminectomy. However, this conclusion should be supported by additional pharmacological studies.

Keywords: Spinal cord injury, *Clitoria Ternatea*, Apoptosis, Rat, Trauma

1. GİRİŞ

Spinal kordun ayrıntılı anatomisinin geçmişi, sinir sisteminin diğer bölümlerine kıyasla nispeten kısadır. Spinal kord travmasına (SKT) ilişkin ilk belge, Edwin Smith papirüsünde kaydedilmiştir. Imhotep tarafından yazıldığı sanılan 4600 yıllık bu belge, üst ve alt servikal omurga yaralanmaları olan hastalarda vertebral subluksasyon, luksasyon, kuadripleji ve paraplejiyi ilk kez ele almıştır (Naderi ve ark. 2004). Akut spinal kord yaralanmaları veteriner hekimlikte yaygın bir sorun olmakla birlikte motor, duyuşal ve otonomik işlevi etkileyen kalıcı, ciddi nörolojik bozukluklara neden olabilmektedir (Olby 2010). Acil olarak değerlendirilmesi gereken spinal kord lezyonları pek çok intrinsik ve ekstrinsik nedene bağılı olarak meydana gelmektedir (Kılıç ve ark. 2013). SKT'lerde primer yaralanma, travma anında nöronal ve vasküler dokulara mekanik hasar verilmesinden sonra meydana gelmektedir (Üstün ve ark. 2014). Primer yaralanmadan sonraki saatler ve günler içerisinde bir takım patofizyolojik sürece bağılı olarak gelişen SKT'ler ise sekonder yaralanma olarak adlandırılmaktadır (Tehli ve ark. 2015). Kitleşel iskemik nöral hücre nekrozu ve apoptoz, metabolik bozukluklar, mikrovasküler yıkım, inflamasyon, lipid peroksidasyonu, serbest radikal üretimi, demiyelinizasyon ve glial skar oluşumu SKT'yi takiben ortaya çıkan ve kapsamlı sekonder yaralanmalarına yol açan patolojik mekanizmalardır. Spinal korddaki sinir aksonlarının mekanik tahribi tedavi için uygun olmasa da, sekonder hasardaki değişiklikler terapötik müdahaleye eğilimlidir (Cemil ve ark. 2012). Primer hasardan sonra başlayan bu sekonder hasar döneminin yavaşlatılması veya durdurulması klinik tedavinin asıl hedefidir (Tehli ve ark. 2015). Bu çalışmanın amacı, deneysel spinal kord travması oluşturulan ratlarda sekonder hasarlara karşı *clitoria ternatea* ekstraktının antioksidan aktivitesi ile olası nöroprotektif ve teröpotik etkisini değerlendirmektir. Bu çalışma sayesinde SKT' de sekonder hasarlara karşı *Clitoria Ternatea* ekstraktının olası nöroprotektif ve terapötik etkisi klinik muayeneleri, biyokimyasal, histopatolojik ve imminohistokimyasal olarak ilk kez ortaya konuldu.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spinal Kord Yaralanmasının Tarihçesi

Spinal kord yaralanmalarının tarihi tıp ve cerrahiye ilişkin bilinen en eski kayıt olan Edwin Smith Papirüsü'ne kadar dayanmaktadır (Schiller ve Mobbs 2012). Eski Mısır'lı bir doktor ve aynı zamanda mimar, rahip, sihirbaz, astronom olan Imhotep tarafından yazılan bu papirüslerde 48 kemik lezyonu belirtilmiştir (Büyükkıncı ve ark. 2008). Imhotep Edwin Smith Papirüslerinde adı geçen ilk cerrahdır (Büyükkıncı ve ark. 2008). MÖ 2686-2613 yılları arasında yaşamış olan Imhotep vertebral sublukasayon ve dislokasyonlarını tanımlamış, üst spinal kord travmalarında kuadripleji, alt seviyelerde parapleji geliştiğini ifade etmiştir (Yazar ve Altun 2007). Omurga cerrahisi tekniklerini açıklayan ve adlandıran bir belge niteliğinde olan bu papirüsler spinal kord yaralanmalarını "tedavi edilmeyen bir hastalık" olarak nitelendirilmiştir (Schiller Mobbs 2012). Aynı zamanda spinal kord travmalarının ilk klinik raporunu temsil ettiği düşünülmektedir (Lifshutz ve Colohan 2004).

Hipokrat SKT ile ilişkili komplikasyonları önleme konusunu ele alan ilk kişidir aynı zamanda alçılı tedaviyi ilk öneren ve kullanan kişidir. Galen çıkan sinir köklerini tanımlamış ve hayvanlarda omuriliğin kesilmesi ile ilgili deneyler yapmıştır. Ayrıca Galen ise lordoz, skolyoz ve kifozu derinlemesine tanımlamıştır (Schiller ve Mobbs 2012; Üzümcügil ve ark. 2020).

2.2. Spinal Kord Embriyolojisi

Spinal kordun oluştuğu temel embriyolojik aşamalar gastrulasyon, birincil nörolasyon ve ikincil nörolasyondur (Rossi ve ark. 2003).

Gastrulasyon evresi; Vücut formunun gelişimi, bilaminar diskten trilaminar embriyonik bir diskin oluşturulduğu bir süreç olan gastrulasyon safhasında başlar (Kaplan ve ark. 2005). Ektoderm, mezoderm ve endoderm olarak adlandırılan bu üç germ hücre tabakasını oluşturan sürece gastrulasyon denir (Thompson 2014). Embriyo bu evrenin başlangıç sürecinde iç ve dış hücre kitlelerinden oluşan iki tabakalı bir yapıya sahiptir (Thompson 2014). Embriyonun dorsalinde orta hatta, kranialden kaudale uzanan ve

primitif çizgi adı verilen bir oluk bulunur (Yazıcı 2019). Bu oluk boyunca iki tabakanın arasına yeni hücrelerin göç etmesiyle embriyo üç tabakalı hale gelir Dıştaki tabaka ektoderm, ortadaki mesoderm ve içteki de endoderm olarak adlandırılmaktadır (Yazıcı 2019).Gastrulasyon evresinin sonuna doğru primitif çizgi kaudale doğru regrese olup yerini notokord adı verilen tubular bir yapıya bırakır (Yazıcı 2019).

Primer nörilasyon; Notokord ve üzerini örten ektoderm arasındaki etkileşim ya doğrudan indüksiyon yoluyla ya da bir başlangıç nöroektodermal varsayılan durumunun korunmasıyla nöroektodermin oluşumuyla sonuçlanmakla beraber spinal kordun da %90'ı bu evrede oluşur (Rossi ve ark. 2003; Yazıcı 2019).

Sekonder nörilasyon; primer nörilasyonun tamamlanmasının ardından başlayan süreç olmakla beraber bu evrede embriyonun distal kesimindeki pluripotente hücrelerden oluşan kaudal hücre kitlesi, spinal kordun distal kesimini şekillendirilir ve sekonder nöral tüp meydana gelir. Sekonder nöral tüp, sonunda, gerileme, dejenerasyon ve daha fazla farklılaşmanın bir kombinasyonunun meydana geldiği retrogresif farklılaşma yoluyla konus medullaris ve filum terminale'nin ucuyla sonuçlanır (Rossi ve ark. 2003; Yazıcı 2019).

2.3. Spinal Kord Anatomisi

Spinal kord sinir sisteminin substania alba ve griseadan meydana gelen ve meningeslerle çevrili olarak canalis vertebralis'te bulunan yarı silindirik bir yapıdır (Kahvecioğlu ve ark. 1995). Bilindiği gibi spinal kordun her iki tarafından simetrik olarak spinal sinirler çıkar ve her spinal sinir medulla spinalisin bir segmenti karşılığındadır. Spinal kord, bu sinirlerin çıkış yerine göre pars cervicalis, pars thoracica, pars lumbalis, pars sacralis ve pars caudalis olmak üzere 5 bölüme ayrılmaktadır (Bahadır ve ark. 1994). Spinal kord, medulla oblongatadan foramen magnum seviyesinde herhangi bir sınır göstermeden başlayıp conus medullaris'i şekillendirerek sonlanmaktadır (Toyran ve Çakmak 2021). Dorso-ventral olarak basık bir silindire benzeyen spinal kord kalınlığı bütün uzunluğu boyunca aynı olmayıp özellikle pars cervicalis'ten pars thoracica'dan ve pars thoracica'dan pars lumbalis'e geçiş yerinde genişleme gösterir. Bunlardan birincisine intumescentia cervicalis ikincisine intumescentia lumbalis adı verilir. Medulla spinalisin bu parçalarının canalis vertebralis içindeki durumu columna vertebralisin aynı ismi taşıyan bölümleri hizasına

raslamaz ve medulla spinalisin segmentleri kendilerine tekabül eden vertebralara oranla daha önde yer alırlar (Bahadır ve ark. 1994). Spinal kord dorsalden basık ve iki yüze sahiptir, bu yüzlerde de oluklar bulunmaktadır. Fissura mediana ventralis olarak isimlendirilen bu oluk spinal kordun altta kalan yüzün tam orta kısmında uzunlamasına yer alan bir oluşumdur. Sulcus lateralis ventralis olarak adlandırılan oluklarsa mevcut oluğun her iki tarafında bulunur ve spinal sinirlere ait olan ventral dallar bu oluklardan çıkmaktadırlar. Dorsal yüzde tam ortadaki oluk ise sulcus medianus dorsalis olarak isimlendirilir. Sulcus lateralis dorsalis olarak adlandırılan oluklarsa sulcus medianus dorsalis'in her iki yanında sığ olarak yer alır (Toyran ve Çakmak 2021).

Canalis vertebralis içinde yer alan bu oluşum sığırda ilk sacral vertebra düzeyinde maymunda 4. ve 5. lumbal vertebrae, köpekte 7. lumbal vertebra'nın cranial'inde, kedi de sacrum'un ortalarında veya ilk sacral omur yakınında, atta ise 2. sacral vertebra'nın caudal yarımını ya da, 1. ve 2. sacral vertebra'nın birleşme yerinde sonlanır (Öcal ve ark. Hazıroğlu 1988). Foramen magnum'dan başlayan spinal kord, canalis vertebralis'in sonuna kadar uzanır Spinal kord, meninksler olarak adlandırılan üç zarla çevrilidir bunlar; pia mater, araknoid mater ve dura mater'dir. Dura mater spinalis meninkslerin en dış tabakasıdır ve spinal kordun korumak için hareket eden sert ve elastik olmayan bir zardır. Araknoid mater spinalis, meninkslerin orta tabakasıdır. BOS ile dolu olan subaraknoid boşluğu içeren avasküler bir meningeal tabakadır. Subaraknoid boşluk, miyelografi sırasında radyografik kontrast maddelerle opaklaştırılabileceği için klinik olarak önemlidir. Pia mater spinalis meninkslerin iç tabakasıdır ayrıca beyindekine kıyasla daha kalın ve yoğundur. Spinal kordun yüzeyine yakından yapışır (Jeffery 1995; Patel ve ark.2009).

Spinal kordun ana arteriyel beslenmesi, servikal bölgede vertebral arterlerden, torasik bölgede dorsal interkostal arterlerden ve spinal kordun lomber bölgesinde lomber arterlerden çıkan segmental spinal kord dalları tarafından sağlanmaktadır (Mazensky ve ark. 2017). Radiküler arterler aorttan veya servikal bölgede vertebral arterden türetilir (Bolat ve ark 2012). Spinal kordun histolojik kesitlerinde H harfini andıran gri cevher merkezde, beyaz cevher ise periferde yer almaktadır (Bolat ve ark. 2012). Spinal kord nöronlarının hücre gövdelerini bir miktar destekleyici hücreyi (glia) ve bağlantı sinir liflerini içerir (Jeffery 1995). Beyaz madde, miyelin üreten ve aksonları destekleyen ve

koruyan glial hücrelerle birlikte sinir sisteminin daha rostral veya daha kaudal kısımlarıyla bağlantı kuran aksonları içermektedir (Jeffery 1995).

2.4. Spinal Travma Modelleri

2.4.1. Travmatik Yaralanma

1. Akut kinetik kompresyon

2.4.2. Non-Travmatik Yaralanma

1. İskemi; Aort oklüzyonu, Selektif arter ya da ven oklüzyonu

2. Tümör kompresyonu

3. Kimyasal

Spinal travma modelleri (Tator ve ark. 1991).

Spinal kord travmaları içinde en yaygın kullanılan model olan ağırlık düşürme modeli 1911 yılında Allen tarafından tanıtılmıştır (Tator 1995). Bu model tekrarlanabilir, ölçülebilir ve standartlaştırılmış lezyonları indüklemesi ile öne çıkmıştır ve günümüzde hala deneysel lezyonların oluşturulmasında kullanılan temel olmaya da devam etmektedir (Lifshutz ve Colohan 2004).

2.5. Spinal kordun Yaralanma Mekanizmaları

Spinal kord yaralanması primer ve sekonder hasar olmak üzere iki aşamalı karmaşık bir süreçtir (Difazio ve ark. 2013). Primer hasar travmadan hemen sonra meydana gelir ve travmatik etkinin doğrudan sonucudur ve yaralanmanın boyutuna bağlı olarak fokal veya diffüz olarak sınıflandırılmaktadır (Difazio ve ark. 2013). Spinal kordun akut yaralanması, sekonder hasarının gelişmesiyle sonuçlanan bir dizi vasküler, biyokimyasal ve inflamatuvar olayı başlatır. Sekonder hasar akut (0-48 saat), subakut (48 saat-2 hafta) ve kronik fazlar üzerinde gelişir (Olby 2010).

2.5.1. Primer Hasar Mekanizması

Primer hasar, spinal kordun fiziksel yaralanmasıdır ve nöral dokunun laserasyon, kontüzyon, kompresyon ve traksiyonunun sonucudur. Primer yaralanma mekanizmalarından kaynaklanan patolojik değişiklikler, kopmuş aksonları, hücrelere doğrudan mekanik hasarı ve yırtılmış kan damarlarını içerir. Sekonder yaralanma çok önemlidir ve primer yaralanmanın genişlemesinden sorumludur (Aubrey ve ark. 2010). Primer yaralanmalar arasında epidural hematomlar, subdural hematomlar, subaraknoid kanama, kortikal kontüzyonlar/hematomlar ve travmatik aksonal yaralanma yer alır (Difazio ve Fletcher 2013). Primer yaralanma maksimum 2 saat sürer ve nispeten lokalize doku yıkımına neden olabilir. İlk darbeden birkaç dakika sonra, genellikle akut, subakut, geçiş ve kronik aşamaya ayrılan sekonder yaralanma başlar. İlk mekanik saldırı, özellikle periferik olarak beyaz maddenin göreceli olarak korunmasıyla, esas olarak merkezi gri maddeye zarar verme eğilimindedir (Dumont ve ark. 2001, Sulla ve ark. 2022). Gri maddedeki bu artan hasar eğiliminin, daha yumuşak kıvamının ve daha fazla damarlanmasının bir sonucu olduğu tahmin edilmektedir. Spinal kord içerisindeki kan akışı primer yaralanmadan sonra bozulur. Kan akımının bozulması, hipoksi ve iskeminin sebep olduğu lokal enfarktüsle sonuçlanır. Bu, yüksek metabolik gereksinimi nedeniyle özellikle gri maddeye zarar verir. Yaralanma bölgesinden geçen nöronlar fiziksel olarak bozulur ve azalmış miyelin kalınlığı sergilerler. Sinir iletimi, yaralanma bölgesine yakın mikrokanamalar veya ödem nedeniyle daha da bozulabilmektedir. Gri cevherin yaralanmadan sonraki ilk bir saat içinde, beyaz cevherin ise yaralanmadan sonraki 72 saat içinde geri dönüşümsüz olarak hasar gördüğü ileri sürülmüştür (Dumont ve ark. 2001). Sonuç olarak hücre zarlarının fiziksel olarak parçalanması, kanamaya ve bunun sonucunda iskemi ve yaygın nöronal ve glial yaralanmaya neden olur (Olby 2010). Fıtıklaşmış disk materyali, yer değiştirmiş vertebralar, vertebral fragmentler ve epidural hematomlar sürekli basıya neden olurlar (Olby 2010). Bas hem arteriyel beslenmeyi sınırlayarak hem de venöz drenajı tıkayarak spinal kord perfüzyonunu etkiler ve miyelin ile aksonlarda doğrudan hasara neden olur (Olby 2010). Yer değiştirmiş bir vertebra kırığı durumunda, primer yaralanma, spinal kordun tamamen fiziksel olarak kesilmesine ve yıkıcı sonuçlara yol açabilmektedir (Olby 2010).

2.5.2. Sekonder Hasar Mekanizması

Primer hasar, genişleyen bir doku yıkımı bölgesine neden olan bir dizi ikincil olayı başlatır (Olby 2010). Birden fazla patolojik olayın aracılık ettiği sekonder yaralanma süreçleri arasında hemoraji, ödem oluşumu, mikrovasküler yatağın kırılması, hücre zarı sızıntısı, iskemi, mitokondriyal hasar ve işlev bozukluğu, Ca²⁺ ve Na⁺'nın hücre içi kayması, vazospazm, kan omurilik bariyerinin bozulması, lipid peroksidasyonu, iyon pompası düzensizliği, K⁺'nın hücre dışı kayması, aşırı nörotransmitter salınımı, serbest radikal üretimi (O₂, NO, H₂O₂, OH), eksitotoksik amino asitlerin (özellikle glutamat) ve prostaglandinlerin salınımı, sitokinlerin salınması, hücre içine bağışıklık hücrelerinin (nötrofiller, T-lenfositler, makrofajlar, monositler), apoptoz, kalpain aracılı proteoliz ve DNA hasarıdır (Sulla ve ark. 2022). SKT'den sonra birçok hayvan, visseral arterlerin vazodilatasyonu veya kan kaybı nedeniyle pulmoner disfonksiyon, kardiyovasküler instabilite ve hipovolemik şok ile kendini gösterir. Hipovolemi ve hipoksemi sekonder omurilik hasarına katkıda bulunur (Sulla ve ark. 2019).

2.6. Spinal Kord Yaralanmalarının Patofizyolojisi

SKT'yi genellikle ani hematoma oluşumu ve oksidatif ve inflamatuvar yanıtlar takip eder. Bu olaylar, enzim aktivasyonunu, inflamatuvar hücre göçünü, glial aktivasyonu ve nöronal doku bozulmasını içermektedir (Kim ve ark. 2015). Yaralanmayı takiben saptanabilen ilk patolojik değişiklik, spinal kordun genellikle hücre zarlarının doğrudan mekanik bozulması veya vasküler bozulmadan kaynaklanan iskemi nedeniyle hücrelerin hemen nekrotik ölüme maruz kaldığı merkezi gri maddede kanamadır (James ve ark. 2008). Spinal travma sırasında kanama, SKT'nin erken döneminde başlar ve daha sonra kan akışının kesilmesi ile devam eder. Hipoksi ve lokal iskemik infraksiyon, SKT'yi takiben kan akışının bozulmasının sonuçlarıdır (Zhang ve ark. 2021). Kanamalar, spinal kordda hücre dışı boşlukların hemoglobine ve onun parçalanma ürünlerine maruz kalmasına neden olur ve bu da daha sonra serbest radikal oluşumuna neden olabilir (Kim ve ark. 2015). Sekonder hasarın diğer biyokimyasal olayları, kalsiyum bağımlı glutamata bağlı hücre ölümü ve proteinlere, nükleik asitlere, lipidlere ve glikosaminoglikanlar gibi hücre dışı matris proteinlerine zarar vererek nöronal hücre ölümüne ve fonksiyon kaybına neden olan serbest radikallerin ve nitrik oksit üretimini içerir. SKT ayrıca, enerji kaybına, hipoksiye ve mitokondri fonksiyon bozukluğuna

neden olan vasküler hasara neden olmaktadır (Venkates ve ark. 2019). Ayrıca, mikrogliyal aktivasyon, hematoma temizlenmesinde yer alır ve aktive edilmiş mikrogliya, çeşitli sitokinler salgılar (Kim ve ark. 2015). SKT'yi takiben, bu olayların ilerlemesi merkezi sinir sisteminde aksonal rejenerasyonu engeller ve hastalar nörolojik hasardan kurtulamazlar (Kim ve ark. 2015). Spesifik olarak bu iki durum metabolik fonksiyonun yüksek olduğu gri maddeye zarar verir ve hasarlı bölgedeki nöronlar fiziksel olarak parçalanıp miyelin kalınlığının azaldığı görülür. Tüm bunlara ek olarak, nöronal iletimdeki bozulma, ödem ve hasarlı dokuda makrofajların birikmesi ile artabilir. En dikkate değer mekanizma, iskemiye bağlı enerji eksikliği ve hücresel düzeyde bozulmuş perfüzyondur (Zhang ve ark. 2021).

2.6.1. Serbest Radikal Kaynaklı Hasar

SKT'den sonra erken meydana gelen iyi karakterize edilmiş bir patolojik süreç, reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinin oluşumudur (Oyinbo 2011). Serbest radikaller en dıştaki yörüngede eşleşmemiş bir elektrona sahiptir. Bu nedenle son derece reaktifler ve normal moleküllerle reaksiyona girdikten sonra diğer radikal türlerin oluşumuna yol açarak bir zincirleme reaksiyon oluştururlar. Normal hücre metabolizması sırasında az sayıda serbest radikal üretilir, ancak bunlar askorbat, a-tokoferol ve süperoksit dismutaz gibi enzimler dahil olmak üzere çeşitli ajanlar tarafından temizlenir ve böylece hücre zararlı etkilerinden korunur. İskemi, hücre içinde metabolizmanın değişmesine, laktat birikimine ve yüksek hücre içi kalsiyum seviyeleri ile kombinasyon halinde, serbest radikal üretimini teşvik eden biyokimyasal yolların aktivasyonuna neden olur. Serbest radikaller, hücre zarının işlev bozukluğuna yol açan ve nihayetinde hücre ölümüne yol açabilen, lipid peroksidasyonu olarak bilinen bir süreç olan hücre zarlarının lipid bileşeni ile reaksiyona girer (Jeffery 1995). Lipit peroksidasyonu, membran hasarına yol açan hücre lizisine, organellerin işlev bozukluğuna ve membran lipitlerinin oksidasyonu yoluyla kalsiyum dishomeostazına katkıda bulunan, kendi kendini devam ettiren bir serbest radikal reaksiyonudur (James ve ark. 2008). Lipit peroksidasyonunda, serbest radikaller bir lipid molekülünden bir elektron alır bu da daha az kararlı hale gelip zarın parçalanmasına ve nekroz yoluyla ölüme yol açan bir zincirleme reaksiyon olayını başlatır (Oyinbo 2011). Nöral doku, yüksek lipid içerdiği için serbest radikal aracılı hasarlara karşı hassastır (Jeffery 1995). ROS üretimi, yaralanmanın ilk 12 saati içinde zirve yapar ve seviyeler en az bir hafta

boyunca yüksek kalır. Serbest oksijen radikalleri, glial, nöronal ve endotelial hasara neden olan lipid peroksidasyonu ile membranlara zarar verir; nitrat ve oksitleyici proteinler ve nükleik asitler ve spesifik mitokondriyal enzimlerle etkileşerek mitokondriyal solunumun inhibisyonuna neden olur (Olby 2010). Serbest radikaller ayrıca kılcal geçirgenliği artırarak yangıyı teşvik etmek ve fagositik hücreler için kemotaktik maddeler olarak hareket etmek gibi başka etkilere de sahiptir (Jeffery 1995).

2.6.2. Apoptoziz

Akut spinal kord yaralanmasından sonra, merkezi sinir sisteminde inflamatuvar reaksiyonlar, nekroz ve apoptoz gibi bir dizi hücrel ve moleküler olay meydana gelir (Wang ve ark. 2017). Hücre ölümünün morfolojik olarak nekrotik ve apoptotik yolla gerçekleşebileceği bilinmektedir (Lou ve ark. 1998). Nekrotik hücre ölümü hücrel kontrol olmadan gerçekleşir ve bu nedenle pasifdir. Nekrotik hücre ölümü, hücrelerin gerçek mekanik bozulmasının yanı sıra sekonder yaralanma kaskadı sırasında meydana gelebilecek aşırı hücrel yaralanmadan sonra meydana gelir. Buna karşılık, apoptotik hücre ölümü, belirli bir indükleyici uyarana indüklenebilir hücreler tarafından aktif olarak düzenlenen bir yanıt gibi görünen fizyolojik veya programlanmış bir hücre ölümü olarak kabul edilir (Lou ve ark. 1998). Apoptoz, SKT 'yi takiben, yangı ve eksitotoksisiteye yol açan inflamatuvar sitokinlerin ve serbest radikallerin salınması nedeniyle aktive edilir (Zhang ve ark. 2020). Bir doku içindeki hedeflenen hücrelerin apoptozuna, ya apoptotik uyarıların ve hücre yüzeyi ölüm reseptörlerinin bağlanmasından ya da mitokondrinin doğrudan bozulmasından ve ardından uygulayıcı kaspazları içeren bir proteolitik kaskadın aktivasyonundan kaynaklanan hücre sinyalinin aktivasyonu aracılık eder. SKT'den sonra, lezyon bölgesindeki bazı hücreler travma sonrası nekrozla ölürken, diğerleri apoptozla ölür (Zhang ve ark. 2012). SKT'yi takip eden 3 saat ile 8 hafta arasında, yaralı spinal kord dokusunu çevreleyen alanlarda apoptoz meydana gelir (Zhang ve ark. 2020). Apoptoz, nöronlar, astrositler, oligodendrositler ve mikroglia dahil olmak üzere özel hücrelerde indüklenir (Zhang ve ark. 2021). Apoptoz, gen düzenlemesinde değişikliklere ve karmaşık bir moleküler mekanizma ile düzenli, enerjiye bağlı bir ölüm sürecine neden olan bir dizi proteazı içerir. Kaspaz-3, apoptozun birçok aşağı akış yolunun ortak efektörüdür ve bir proteaz kaskadının bir bileşenidir. Bu nedenle, Kaspaz-3 ekspresyonunun seviyesi apoptozun derecesini yansıtabilir (Wang ve ark. 2017).

2.6.3. İmmun Yanıt

Tüm sekonder hasar mekanizmaları arasında inflamasyon en önemlisidir ve doğrudan veya dolaylı olarak SKT sonrası sekelleri kontrol eder (Kong ve Gao 2017). Tipik olarak yaralanmadan kısa bir süre sonra tetiklenen doğuştan gelen bağışıklık tepkisi, yaralı parankime sızan yerleşik mikroglia/makrofajları, nötrofilleri ve dendritik hücreleri içerir (Trivedi ve ark. 2006). Makrofajlar, monositler, nötrofiller ve dendritik hücreler gibi fagositler, yerleşik mikroglia ile birlikte, doğuştan gelen spesifik olmayan bağışıklık tepkisinin ana hücresel bileşenleridir ve SKT'den hemen sonra uyarılabilir. Enflamasyon birkaç aşamaya ayrılabilir: 0-2 günde ani nötrofil stimülasyonu ve yerleşik mikrogliaların invazyonu, 3-7 günde lezyona kan monositlerinin toplanması ve 7. günden itibaren antiinflamatuvar makrofajlar ve aksonal yeniden büyüme ile skarın çözülmesi (Kong ve Gao 2017). Nötrofiller, spinal yaralanmasından sonraki saatler içinde birikir ve yaralanmadan 3 gün sonra zirveye ulaşır, ardından birkaç hafta sonra ikinci bir zirveye ulaşır. Nötrofiller, hücre kalıntıları fagosit etme yetenekleriyle iyileşme süreçlerini desteklerken aynı zamanda hasarlı dokuya makrofajları çağırırlar (Trivedi ve ark. 2006). Bu makrofajlar sadece fagositler olarak işlev görmez, aynı zamanda yenilenen aksonların yeniden miyelinasyonu sırasında kullanılabilen, alınan miyelin türevi kolesterol için bir rezervuar görevi görür (Trivedi ve ark. 2006). Nötrofiller reaktif oksijen ve nitrosil radikallerinin yanı sıra sitokinler, kemokinler ve metaloproteinazlar ve nötrofil elastaz dahil olmak üzere bir çok proteazlar salgılar bu nedenle sekonder doku hasarında anahtar belirleyicilerdir. Bağışıklık hücreleri, IL-1, IL-6 ve tümör nekroz faktörü- α (TNF α) dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinler salgılar ve bunların tümü inflamatuvar yanıtın boyutunu artırır (Trivedi ve ark. 2006; Lukacova ve ark. 2021). Sızan mikroglial hücreler, yaralı spinal kordda sekonder hasara katkıda bulunan reaktif nitrojen türleri dahil olmak üzere çeşitli sitotoksik faktörler üretir (Kang ve ark. 2007). Fibroblastlar, enflamatuvar ortamı şiddetlendiren inhibitör hücre dışı matris bileşenlerini biriktirir (Lima ve ark. 2022).

2.6.4. Eksitoksisite

Eksitotoksisite, nöronal hasar üzerine salınan ve yakındaki reseptörleri aktive ederek bu olduğu hücre ölümü sürecidir (Rosado ve ark. 2014). Spinal kord yaralanmasının hemen ardından, glutamat seviyeleri eksitotoksik eşik seviyelerine yükselebilir (Cox ve ark.

2015). Bunun sonucunda nöronlara Ca^{2+} akışı, eksitotoksik hücre ölümü olarak bilinen bir süreç yoluyla nekroz veya apoptoz yoluyla nöronal ölüme neden olur (Oyinbo 2011). Kalsiyum akışı, endoplazmik retikulumda bulunan ryanodin reseptörlerini aktive ederek hücre içi depolardan ek Ca^{2+} salınımını indükler (Rosado ve ark. 2014). Hücre içi Ca^{2+} 'daki bu büyük artış, apoptozu tetikleyen kalpainler ve kaspazlar gibi proteazları aktive eder (Rosado ve ark. 2014). Oligodendrositlere ve nöronlara eksitotoksik hasar, aksonların demiyelinizasyonuna ve yaralanma bölgesi etrafındaki nöronların kaybına neden olarak, aksonal iletimin şiddetli bir şekilde azalmasına veya tamamen durmasına yol açar, böylece beyin ve spinal kord segmentleri arasındaki kopukluğu seviyenin altında arttırır (Oyinbo 2011). Yaralanma ve dolayısıyla motor ve duysal eksikliklere katkıda bulunur (Oyinbo 2011). Sonuç olarak, glutamat eksitotoksitesisi, SKT'den sonra karşılaşılan fonksiyonel sorunları belirgin şekilde şiddetlendirir (Oyinbo 2011).

2.6.5. Vasküler Değişiklikler

Spinal kordda vasküler yapının bozulması ve hipoperfüzyon primer hasarın erken sonuçlarından biridir (Alizadeh ve ark. 2019). Spinal kordda kan akışında azalma artan hücre içi kalsiyum konsantrasyonları ve prostanoidler gibi vazoaaktif kimyasalların salınmasının neden olduğu otoregülasyon kaybı, mikrovaskülatürün tahribatı, trombüs oluşumu ve vazospazmın sonucudur (Olby 1999). Spinal kord otoregülasyonu bozulduğunda, sistemik hemodinamideki anormal değişiklikler spinal kordda kan akışına yansiyabilir (Zhang ve ark. 2021). Fibrin ve trombosit birikimine bağlı konjesyon ve venöz staz, peteşiyal kanamalar, laktik asidoza bağlı olarak doku pH'nın düşmesi, kapiller endotel hasarı iskemi nedenlerinden bazılarıdır (Yılmaz ve ark. 2014). İskemi nedeniyle glikoz ve oksijenin dokulara taşınması ve ATP üretimi önemli ölçüde azalır (Zhang ve ark. 2021). İntrinsik spinal kord damarlarından proteinli sızıntı nedeniyle yaralanan bölgede ve periferik dokularda ödem oluşur (Zhang ve ark. 2021). Ödemli spinal kordda artmış doku basıncı ve sağlam damarlarda kanamaya bağlı vazospazm omuriliğe kan akışını daha da bozar (Alizadeh ve ark. 2019). Anterior spinal arter gibi daha büyük damarlar genellikle sağlam kalırken, travmatik hasara duyarlı daha küçük intramedüller damarların ve kılcal damarların yırtılması lökositlerin ve kırmızı kan hücrelerinin ekstravazasyonuna yol açar (Alizadeh ve ark. 2019). Bağışıklık hücrelerinin yaralanma bölgesindeki bu ekstravazasyonları, yaralı spinal kord dokusu

üzerinde baskı uygular ve kan akışını daha da bozarak vazospazm üretir. Bu durum 24 saate kadar devam eder. Endotel yaralanması ve enflamasyonu daha sonra gözenek boyutunu arttırır ve böylece büyük plazma türevli moleküllerin hücre zarından geçmesine izin vererek vazojenik ödemle sonuçlanır. Bu akut sekonder yaralanma fazı 2 saatten 48 saate kadar devam eder (Anjum ve ark. 2020).

2.7. Spinal Kord Yaralanmalarında Farmakoterapi

Travmatik bir spinal kord yaralanmasını takip eden akut faz, yaralı kordun sekonder hasarını sınırlayabilen nöroprotektif yaklaşımlarla müdahale etmek için önemli bir terapötik fırsat penceresini temsil eder ve böylece hastaya biraz nörolojik iyileşme elde etmesi için en iyi şansı sağlar (Williams ve ark. 2020). Etkili terapötik müdahale, SKT'den sonra yaralanmanın gelişiminde yer alan patofizyolojik mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını gerektirir (Leonard ve ark. 2015). Spinal kordun karmaşık anatomisi nedeniyle avantajlı tedavilerin tasarlanmasında hala büyük zorluklar oluşturmaktadır (Mcmahill ve ark. 2015). SKT'nin hem primer hem de sekonder yaralanma mekanizmalarını içerdiği, sekonder yaralanma mekanizmalarının tersine çevrilebilir olduğu ve dolayısıyla potansiyel terapötik müdahalelerin geliştirilmesi için sıklıkla hedeflendiği iyi bilinmektedir (Leonard ve ark. 2015). Spinal kord yaralanması önemli bir sakatlık nedenidir ve mevcut, evrensel olarak kabul edilmiş bir tedavi yoktur (Paspala ve ark. 2022). Spinal kord dekompresyonu ve omurga fiksasyonu dahil olmak üzere ultra erken cerrahi müdahaleler rutin olarak yapılır, ancak birincil hasar yaralanma anında zaten meydana geldiğinden, SKT'de tam olarak iyileşmeyi sağlamak genellikle zordur (Yamazaki ve ark. 2020). Spinal kord parankiminin kaybına bağlı geri dönüşümsüz fonksiyon kaybı uzun zamandır bilinmektedir ve yoğun çabalara rağmen başarılı tedaviler hala mevcut değildir (Mcmahill ve ark. 2015). SKT için başarılı bir tedavi, nöral işlevi eski haline getirir ve parankimal mimariyi verimli bir şekilde değiştirir (Mcmahill ve ark. 2015). Bu nedenle, SKT tedavisi için mevcut ana hedef, akut (birkaç gün içinde), subakut ve kronik fazlara bölünebilen sekonder hasar kaskadını azaltmak veya durdurmaktır (Yamazaki ve ark. 2020).

2.7.1. Kortikosteroidler

SKT'de kortikosteroidlerin kullanımını destekleyen önerilen mekanizmalar arasında serbest radikal temizleme, antiinflamatuvar etkiler ve iyileştirilmiş bölgesel kan akışı yer

alır (Difazio ve ark. 2013). İnsanlarda ve hayvanlarda akut SKT'nin tedavisinde kortikosteroidlerin kullanımı, kapsamlı klinik araştırmalara rağmen tartışmalıdır (Difazio ve ark. 2013). SKT'de kortikosteroid tedavisine ilişkin klinik ve deneysel araştırmaların çoğu metilprednizolon sodyum süksinat (MPSS) üzerine odaklanmıştır (Difazio ve ark. 2013). MPSS, güçlü anti-enflamatuar etkileri nedeniyle geniş bir hastalık yelpazesinde kullanılan bir kortikosteroiddir (Fehlings ve ark. 2017). MP'nin antioksidan nöroprotektif etkisi, ilacın doku farmakokinetiği ile yakından bağlantılıdır (Hall 2011). Akut SKT'nin klinik tedavisi için mevcut standart etkili terapötik ajan olarak MPSS'nin, hücre zarı lipid peroksidasyonunu inhibe etmenin yanı sıra inflamasyonu ve spinal kord iskemisini azaltarak sekonder hasarı hafiflettiği gösterilmiştir (Kim ve ark. 2015). Diğer kortikosteroidler (örneğin, prednizon ve deksametazon) bu özelliğe sahip değildir ve sekonder SKT'nin tedavisinde herhangi bir yararlı etkiye sahip olma olasılığı düşüktür (Difazio ve ark. 2013). Deksametazon ve hidrokortizon gibi diğer kortikosteroid ajanlarla karşılaştırıldığında, metilprednizolonun üstün antioksidan özelliklere sahip olduğu, hücre zarlarından daha hızlı geçtiği ve aktive edilmiş kompleman bileşenlerine nötropenik yanıtı inhibe etmede daha etkili olduğu görölmektedir (Dumont ve ark. 2001). Örneğin, 30 mg/kg'lık bir intravenöz dozun uygulanmasını takiben MP doku seviyeleri zirvede olduğunda, yaralı korddaki laktat seviyeleri baskılanır (Hall 2011). Doku MP seviyeleri düştüğünde, spinal doku laktatı yükselir (Hall 2011). Bununla birlikte, birinci dozdan sonraki seviyelerin %50 oranında düştüğu noktada ikinci bir dozun (15 mg/kg i.v.) uygulanması, ilk dozun zirvesinde görölen laktat baskılanmasını sürdürmek ve ATP üretimini ve enerji yükünü daha etkin bir şekilde sürdürür ve spinal kord nörofilamentlerini bozulmaya karşı korur (Hall 2011). Bununla birlikte, yüksek dozlarda glukokortikoid steroidlerin uygulanması, enfeksiyon insidansında artış, pnömoni, bası yaraları, gastrointestinal kanama ve derin ven trombozu gibi birçok komplikasyona neden olur (Kim ve ark. 2015). Metilprednizolonun (MP) nörolojik iyileşmeyi iyileştirebileceğini ve nörolojik ağığı bir dereceye kadar azaltabileceğini gösteren yakın tarihli büyük klinik çalışmaların yayınlanmasına rağmen, çalışma tasarımı ve analizi/yorumlanması ile ilgili sorunlar nedeniyle akut SKT tedavisinde kortikosteroidlerin kullanımına ilişkin önemli tartışmalar devam etmektedir (Dumont ve ark. 2001).

2.7.2. Gangliozidler

Sekonder hasarları azaltmayı amaçlayan nöroprotektif ajanlar, SKT'de potansiyel anahtar tedavilerdir (Rouanet ve ark. 2017). Gangliositler, merkezi sinir sistemi hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunan asit yapılı kompleks glikolipidlerdir (Geisler ve ark. 1990). Gangliositler, günümüzde bilinen ve sinir yenilenmesini hızlandırmada büyük rol oynayan ilaçlardır (Yuan ve ark. 2017). Hücre zarının önemli bir bileşenidirler ve sinaptik kavşakta en yüksek konsantrasyonda bulunurlar (Geisler ve ark. 1990). Hayvan çalışmalarında, gangliositlerin hasarlı dokudaki sinir hücrelerinin büyümesini uyardığı gösterilmiştir. Etki mekanizmaları, yaralanma bölgesinden geçen artık aksonal yolların hayatta kalmasını arttırmayı ve böylece distal olarak yararlı motor fonksiyonun geri kazanılmasını kolaylaştırmayı içerir (Delamarter ve Coyle 1999). Fakat gangliosid bileşiğinin randomize yapılan kontrollü çalışmasında 6 ay sonunda nörolojik iyileşmede bir fark görülmediğinden artık önerilmemektedir (Boyalı ve ark. 2020).

2.7.3. Lazaroidler

Metilprednizolonun sekonder hasarı azaltmadaki etkisinin hormonal aktivitesinden ayrı olduğunun fark edilmesi lipid peroksidasyonunu özel olarak inhibe eden lazaroidlerin (21-aminosteroidler) gelişimini uyardı. Lazaroidler, reseptör bağımlı yan etkiler olmaksızın glukokortikoidlerin zar stabilize edici etkilerine sahip benzersiz bileşiklerdir. Lazaroidler, anti-lipid peroksidasyon etkilerini serbest radikal temizleme ve membran stabilizasyonu yoluyla uygularlar. Travmatik ve iskemik yaralanmaya ilişkin ilk hayvan çalışmaları, lazaroidlerin, E vitamininkine benzer bir mekanizma olan peroksil radikallerini temizleyerek membran lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini göstermektedir (Kavanagh ve Kam 2001).

2.7.4. Opioid Reseptör Antagonistleri

Akut SKT'den sonra endojen opioid seviyelerindeki artış ve ardından opioid reseptörlerinin aktivasyonu sekonder hasara katkıda bulunabilir. Opioid antagonizması da dahil olmak üzere bu sekonder yaralanma mekanizmasını hedef alan farmakolojik stratejiler incelenmiştir. Spesifik olmayan bir opioid reseptör antagonisti olan Nalokson, en çok incelenen ajan olmuştur (Dumont ve ark. 2001). Nalokson tedavisinin

hipotansiyon, hipotermi ve hipoventilasyonu tersine çevirmede ve deneysel spinal yaralanmayı takiben nörolojik sonucu iyileştirmede yararlı olduğu bildirilmiştir (Milne ve Jhamandas 1984).

2.7.5. Kalsiyum Kanal Blokerleri

Kalsiyum, çeşitli patolojik iskemik durumlarda merkezi bir rol oynayabilir. Spinal kord yaralanmasından sonra korddaki kan akışının ölçümleri, bazı deneysel çalışmalarda, yaralanma bölgesinde ve önemli mesafelere yayılan iskemi göstermiştir. Farmakoterapinin spinal kord hasarı üzerindeki yararlı etkileri, kalsiyum antagonistleri ile bildirilmiştir (Baykal ve ark. 1995). Kalsiyum kanal blokerleri, glutamat olmayan reseptörler yoluyla hücelere patolojik kalsiyum akışını azaltmada önemli etkiler gösterir (Zhang ve ark. 2021). Kalsiyum kanal blokerleri, hücre duvarını kapsayan iyonca özgü kanallardan hücre dışı kalsiyum akışını engeller (William ve Ram 2011). Bununla birlikte, kalsiyum blokerlerinin güçlü fizyolojik etkileri, nöronal ve glial hücre zarları boyunca kalsiyum akışını indüklemek yerine vasküler düz kas üzerindeki farmakolojik aktiviteleri aracılığıyla düzenlenir. Akut SKT'de kalsiyum kanal blokerlerinin uygulanması, yaralı spinal kord bağlamında otoregülasyon nedeniyle zararlı olabilecek sistemik hipotansiyon potansiyeli ile ilgili endişeleri artırmaktadır (Zhang ve ark. 2021).

2.7.6. Magnezyum

Merkezi sinir sisteminde, iyi anlaşılmasına rağmen, Mg'nin kalsiyum homeostazının korunmasında kritik bir rolü vardır ve bu nedenle nörotransmitter salınımında, nodal dokuda aksiyon potansiyeli iletiminde ve transmembran elektrolit akışında yer alır (Sperl ve ark. 2019). Magnezyum'un deneysel gerçekleştirilen beyin hasarı ve spinal kord iskemisinde etkili bir nöroprotektif ajan olduğu ileri sürülmüştür (Kaptanoğlu ve Beşkonaklı 2003). Sinir yapılarında N-metilD-aspartat reseptör blokajı ile glutamat toksisitesini önler (Kaptanoğlu ve Beşkonaklı 2003). Magnezyum iyonları, kalsiyum iyonları ile rekabet ederek, endojen bir kalsiyum kanal blokeri olarak hareket eder ve NMDA reseptörü ile ilişkili iyon kanallarını kaplayarak nöronal hücresel fizyolojide önemli bir rol oynar. Ayrıca magnezyum, membran bütünlüğü, hücresel solunum, transkripsiyon gibi normal hücre fonksiyonları için gereklidir (Süzer ve ark. 1999). Eksikliği, hücre içi kalsiyum aşırı yüklenmesine ve hücre altı dağılımında bozukluklara

neden olabilir. Bu serotonin ve asetilkolin gibi uyarıcı nörotransmitterlerin uyarılmasına, N-metil-d aspartat reseptörünün rekabetçi olmayan blokajına ve inhibitör amino asit y-amino bütirik asidin etkisinin azalmasına yol açabilir (Sperl ve ark. 2019). Magnezyum ayrıca subaraknoid kanamadan sonra deneysel olarak gecikmiş serebral vazospazmı tersine çevirir ve vazokonstriksiyondan kaynaklanan vasküler değişiklikleri önleyerek yararlı bir etkiye sahiptir (Kaptanoğlu ve Beşkonaklı 2003).

2.7.7. Sodyum Kanal Blokorü

Primer hasardan sonra, hücre içi sodyumun toksik bir birikimi olduğu için sodyum kanallarını bloke edebilen ve bu yanıtı düzeltebilen ilaçlar faydalı olabileceği görüşü öne sürülmüştür. Sodyum kanal blokerlerinin kullanımı sezgisel bir terapötik strateji olmaya devam etse de, akut SKT' deki etkinliğini destekleyen veriler çok azdır (Dumont ve ark. 2001).

2.8. Clitoria Ternatea

Clitoria ternatea, Fabaceae familyasından bir bitkidir (Lijon ve ark. 2017). Bitki, çoklu farmasötik uygulamaları nedeniyle geleneksel Hint tıp sisteminde benimsenmiştir (Ponnusamy ve ark. 2010). Hint tıbbının geleneksel ayurveda sisteminde çok çeşitli hastalıkları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan çok yıllık bir tırmanıcıdır. Ayurveda tıbbında yüzyıllardır hafıza güçlendirici, nootropik, antistres, anksiyolitik, antidepresan, antikonvülsan, sakinleştirici ve yatıştırıcı ajan olarak kullanılmaktadır (Lijon ve ark. 2017). *Clitoria ternatea* özleri, çeşitli nörolojik bozuklukların tedavisi ve entelektüel yeteneği güçlendirmek için gençleştirici bir bitkisel formülasyon olan "Medhya Rasayana" da bir bileşen olarak kullanılmıştır (Gollen ve ark. 2018). *Clitoria ternatea*'nın geleneksel tıpta popüler kullanımı, araştırmacıları çeşitli *Clitoria ternatea* dokularından elde edilen ekstraktların farmakolojik aktivitelerini aydınlatmaya teşvik etmiştir (Georgianna ve ark. 2019). Ekstraktları, antimikrobiyal, antipiretik, antiinflamatuvar, analjezik, antidiyabetik dahil olmak üzere çok çeşitli farmakolojik aktivitelere sahiptir (Kalmankar ve ark. 2020). Çok sayıda hayvan çalışması, ekstraktların diüretik, nootropik, antiastmatik, antiinflamatuvar analjezik, antipiretik, antidiyabetik, antilipidemik, anti-artritik, antioksidan ve yara iyileştirici özellikler sergilediğini bildirmiştir (Georgianna ve ark. 2019). *Clitoria ternatea* yüksek miktarda antosiyanin pigmenti içerir (Jamil ve ark. 2018). Flavonoidler, ternatinler,

antosiyeninler, alkaloidler, taraxerol, saponinler, tanenler ve taraxerone, *Clitoria ternatea*'da bulunan başlıca bileşenlerdir (Turnos 2021). *Clitoria ternatea* kuersetin, kaemferol, robinin ve klitorin gibi flavonoidler içerir (Turnos 2021). Ayrıca nişasta, tanen, reçine ve antosiyeninler ve malvidin-3- β -glikozit, deipinidin-3- β -glikozit dahil olmak üzere çeşitli glikozitler içerir (Turnos 2021). Birçok kanıt, *Clitoria ternatea*'nın diğer çiçeklere ve ilaç elementlerine kıyasla antioksidan özellikler açısından zengin olduğunu göstermektedir (Jamil ve ark. 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel Ortam, Deneysel Hayvan ve Deneysel Süresi: Hayvan deneylerinin Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 11.03.2022 tarihli 01/06 sayılı onayı ile gerçekleştirildi. Çalışma için 200-250 g ağırlığında 35 adet Wistar albino ırkı erkek rat Bingöl Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Araştırma Merkezi aracılığıyla temin edildi. Deneklere adaptasyon süresi 7 gün olarak belirlendi. Deneysel spinal kord travması oluşturulacak hayvanların deney süresi 1 gün (24saat) sürdü. Deneysel spinal kord travmasında 7 gün adaptasyon 1 gün deney süresi ile toplamda 8 gün sürdü. Çalışmanın deneysel aşaması, Bingöl Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde özel bir odada yapıldı. Oda sıcaklığı $22-24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ nem oranı $\%55 \pm \%5$ olacak şekilde dışarıya alınan ve verilen hava filtre edilebilecek şekilde sağlandı. Deneysel hayvan odalarının aydınlık/karanlık oranları 12 saat/12 saat şeklinde ayarlandı. Ratlar bireysel kafeslerde (50x30x30 cm'lik) barındırıldı. Çalışmada ticari bir firmadan temin edilen olan liyofilize haldeki *clitoria ternatea* kullanıldı. *Clitoria ternatea* kullanım dozu daha önceki bir literatür referans verisinden alınarak belirlendi (Nithianantham K ve ark 2011). Hayvan sayısı (N=35) G*Power programı (Versiyon 3.1.9) kullanılarak güç analizi ile belirlendi (Polat ve ark 2012; Karatas ve ark 2015). Bu nedenle, popülasyon sayısı baz alınarak ilgili parametreleri $\alpha=0,05$ güven aralığında, $\%95$ güçte (1- β) ve 0,65 etki büyüklüğünde gösterebilmek için her grupta 7 adet rat kullanılacağı hesaplandı.

3.1. Gruplar

Grup I (Kontrol Grubu); bu gruptaki ratlara cerrahi işlem yapılmadı ve yirmi dördüncü saatin sonunda ratlar anestezi altına alındıktan sonra analizler için intrakardiyak kan alınıp sakrifiye edildi ve doku örnekleri alındı.

Grup II; bu gruptaki ratlara sadece dorsal laminektomi yapıldı, spinal kord travması uygulanmadı. Postoperatif yirmi dördüncü saatin sonunda ratlar anestezi altına alındıktan sonra analizler için intrakardiyak kan alınıp sakrifiye edildi ve doku örnekleri alındı.

Grup III; bu gruptaki ratlara dorsal laminektomi uygulandı ve ağırlık düşürülerek spinal kord hasarı oluşturuldu, postoperatif yirmi dördüncü saatin sonunda ratlar anestezi altına alındıktan sonra analizler için intrakardiyak kan alınıp sakrifiye edildi ve doku örnekleri alındı.

Grup IV; bu gruptaki ratlara dorsal laminektomi ve ağırlık düşürme modeli oluşturulmadan 24 saat önce tek doz 200 mg/kg gavaj ile *Clitoria ternatea* ekstraktı verildi. Daha sonra dorsal laminektomi uygulandı ve ağırlık düşürülerek spinal kord hasarı oluşturuldu, postoperatif yirmi dördüncü saatin sonunda ratlar anestezi altına alındıktan sonra analizler için intrakardiyak kan alınıp sakrifiye edildi ve doku örnekleri alındı.

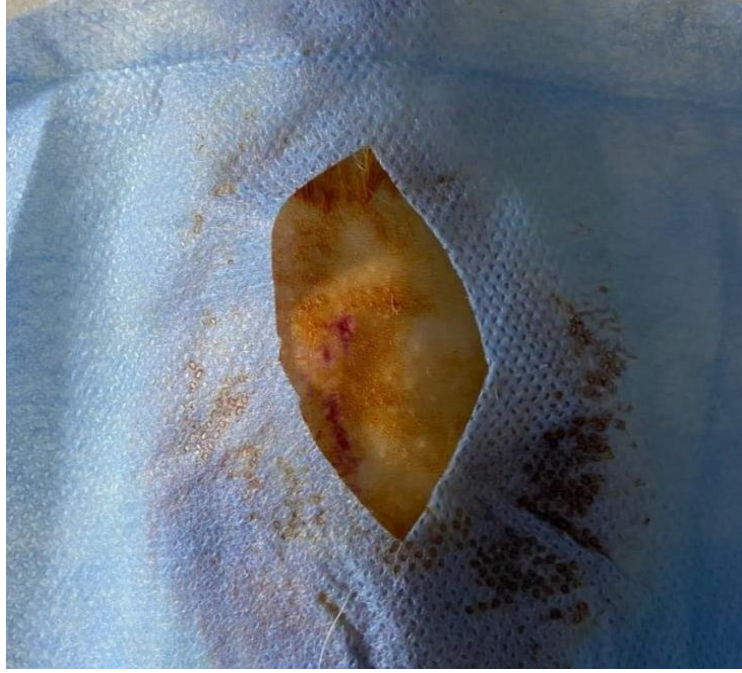
Grup V: bu gruptaki ratlara dorsal laminektomi uygulandı ve ağırlık düşürülerek spinal kord hasarı oluşturuldu. Tek doz 200 mg/kg gavaj ile *Clitoria ternatea* ekstraktı verildi. Postoperatif yirmi dördüncü saatin sonunda ratlar anestezi altına alındıktan sonra analizler için intrakardiyak kan alınıp sakrifiye edildi ve doku örnekleri alındı.

3.2. Anestezi

Cerrahi işlem yapılacak olan tüm gruplardaki ratlara genel anestezi amaçlı intraperitonel yolla 10 mg/kg Ksilazin hidroklorür ve 50mg/kg Ketamin hidroklorür uygulandı.

3.3. Cerrahi işlem

Anesteziye alınan ratlar sternal pozisyonda tespit edildikten rutin cerrahi prosedürlere uygun olarak sırt bölgesi genişçe tıraşlanıp povidon iyot ile antisepsisi sağlandı ve cerrahi işlem yapılacak alan steril serviyet ile sınırlandırılarak interskapular mesafe referans alınıp T5-T12 seviyesinde iki cm ensize edilerek deri ve deri altı dokulardan sonra paravertebral kaslara ulaşıldı. Paravertebral kaslar disseke edilerek prosesus spinozuslar ile vertebral laminalara ulaşıp T7-T10 seviyesinde dorsal laminektomi ile dura mater bütünlüğü bozulmadan spinal kord açığa çıkarıldı (Karatas ve ark. 2015).



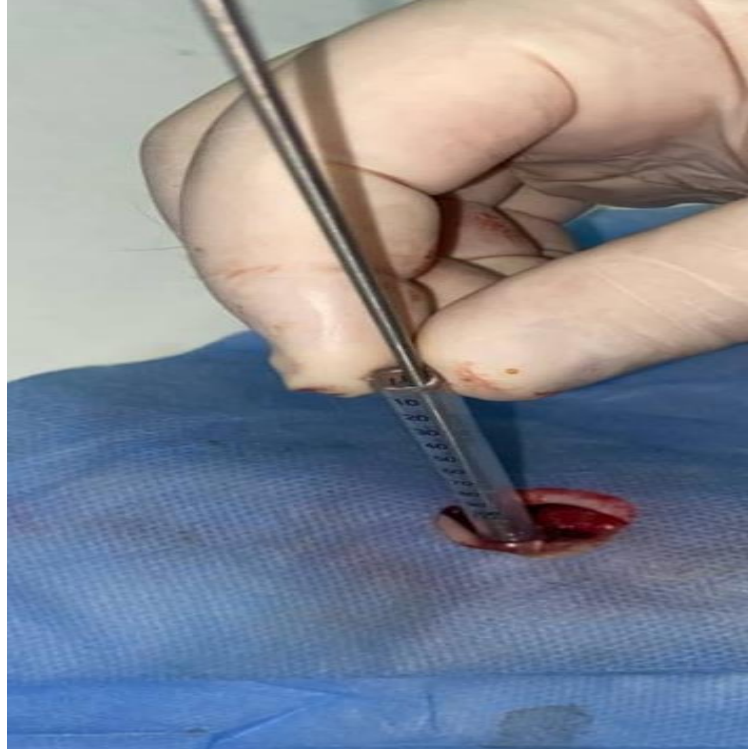
Şekil 3.1. Sırt Bölgesinin Povidon İyot İle Antisepsisinin Sağlanması



Şekil 3.2. Dorsal Laminektomi Operasyonu ve Spinal Kordun Açığa Çıkarılması

3.4. Spinal Kord Travmasının Oluşturulması

Deneysel spinal kord travması oluşturmak için Allen tarafından tarif edilen yüksekte ağırlık düşürme modeli uygulandı (Karatas ve ark. 2015). Bu amaçla çalışmamızda rutin preoperatif aşaması sonrasında perioperatif dönemde T7-T10 arasında dorsal laminektomi ile açığa çıkarılan spinal kord üzerine ağırlık düşürme modeli kullanılarak spinal hasar oluşturuldu. Bu amaçla 10 g ağırlığında 3 mm çapındaki metal çubuk 5 cm yükseklikten bırakılarak ratların paraplejik olmaları sağlandı. Olası kanama durumunda kanamalar kontrol altına alındıktan sonra paravertebral kaslar ve deri cerrahi prosedüre uygun olarak dikildi ve peri-operatif süreç tamamlandı. Postoperatif süreçte ise ratlar sabit oda sıcaklığına bırakıldı.



Şekil 3.3. Spinal Kordun zerine Ağırlık Düşürme



Şekil 3.4. Cerrahi Alanın Dikişlerle Kapatılması

3.5. Clitoria Ternatea Ekstraktının Hazırlanışı

Su kullanılarak *Clitoria ternatea* antosiyaninlerin ekstrakte edildiğinde, suda çözünen diğer biyoaktif bileşikler de birlikte ekstrakte edilir. Bu nedenle, bu bileşikler antosiyanin ekstraktının antioksidan özelliğine de katkıda bulunabileceği ve en uygun ekstraksiyon sıcaklığı 50-60 °C civarında ve ekstraksiyon süresi 20-60 dk olduğu tespit edilmiştir (Chandrajith ve ark. 2021). Çalışmamızda da buna uygun olarak *Clitoria ternatea* ekstaktı elde edildi.

3.6. Postoperatif Analjezi ve Bakım

Postoperatif ketoprofen 5mg/kg subkutan yolla tek doz uygulandı. Daha sonrasında ratlar bireysel kafeslere alınarak serbest beslenmelerine izin verildi.

3.7. Nörolojik Muayene Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Klinik motor muayene değerlendirilmesinde Modifiye Tarlov Skalası (MTS) kullanılacaktır (Gale ve ark. 1985). Modifiye Tarlov Skalasına göre motor fonksiyonları değerlendirilecektir.

Tablo 3.1. Modifiye Tarlov Skalası

| Derece | Modifiye Tarlov Skalası |
|--------|--|
| 0 | Arka ekstremitelere tam paraliz, arka ekstremitelere hareket yok, ağırlık taşıma yok |
| 1 | Farkedilebilir arka ekstremiteler hareketleri, ağırlık taşıma yok |
| 2 | Sık ve/veya güçlü arka ekstremiteler hareketleri, ağırlık bindirme veya lokomasyonla sonuçlanmayan belirgin arka ekstremiteler hareketleri |
| 3 | Arka ekstremiteler vücut ağırlığını destekler, bir veya iki adım atabilir. |
| 4 | Yürüyüşte hafif bir kayıp vardır |
| 5 | Normal yürüyüş |

Kaynak: Gale ve ark. 1985.

Parmak açma testi: Rat gövdesinden kaldırılarak arka ekstremiteler asılı tutulacak ve parmakların açılması gözlemlenerek refleksler aşağıdaki gibi sınıflandırıldı.

Tablo 3.2. Parmak açma testi

| Derece | Parmak Açma Testi |
|--------|----------------------------|
| 0 | Parmakların açılmaması |
| 1 | Parmakların hafif açılması |
| 2 | Parmakların tam açılması |

Kaynak: Öztürk ve ark. 2016

3.8. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu

Biyokimyasal analizler için kalpten kan alınıp denekler sakrifiye edildi. Sakrifikasyon öncesi ratlara anestezi işlemi uygulanıp ve cerrahi yöntemlerle spinal kord yeniden açığa çıkarıldı. Hasarlı spinal kord bölgesi merkez olacak şekilde 1 cm cranial, 1 cm caudal yönde olmak üzere 2 cm kord disseke edildikten sonra %10 luk formaldehit solusyonu içerisine bırakıldı.

3.9. Biyokimyasal Analizler

Serum ve doku MDA analizleri yapıldı bu amaçla çalışmadaki tüm deneklerden alınan kan örnekleri 10 dakika ve 4000 rpm de santrifüj edilip serumları ayrılıp kuru ve temiz eppendorf tüplere alınarak çalışma anına kadar derin dondurucuda -80 °C'de saklandı

aynı şekilde alınan spinal kord dokusu önce izotonik çözeltide yıkandı kurutuldu ve analizler için -80°C 'de saklandı.

3.10. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirme

Ötenazi sonrasında deneklerden alınan spinal kord doku örnekleri % 10'luk tamponlu formalin solüsyonu içerisinde 1 gün süre ile tespit olması için bekletildi. Daha sonra rutin işlemler gerçekleştirilerek 5 mikronluk kesitler alındı ve hematoksilin-eozin boyama yöntemi kullanıldı bu sayede görülen lezyonlar orta ve şiddetli olarak nitelendirildi.

İmmunohistokimyasal boyama işlemi içinde şaleye alınan doku kesitlerine rutin yöntemler uygulandıktan sonra dokulara nonspesifik arka plan boyanmalarını önlemek için protein blok solüsyonu damlatıldı (ab 80436, abcam USA) ve 15 dakika inkubasyonda bekletildikten sonra anti caspase-3 antikoru (sc-56053) damlatılarak inkubasyona bırakıldı ardından sekonder antikordan (komplement) her bir doku örneği üzerine 1-2 damla eklendi ve 20 dk boyunca oda ısısında nemlendirilmiş kaptaki inkubasyona bırakıldı ve HRP konjugat her bir doku örneğine 1-2 damla eklendi, 30 dk oda ısısında nemlendirilmiş kaptaki inkübe edildi. Kromojen olarak 3-3' Diaminobenzidine (DAB) kullanıldı ve hematoksilin (Mayer's) ile 15-20 saniye zıt boyama uygulandı ve yıkanma işlemi uygulandı bu işlemden sonra sırasıyla; 3' er dk. %80 etanol, %96 etanol, %100 etanol ve ksilolde bekletilerek lamalar entallen yardımıyla lamelle kapatıldı.

3.11. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler SPSS istatistiksel yazılımı (Windows için SPSS, sürüm 20.0) kullanılarak yapıldı ve tüm veriler ortalama (\pm) standart hata (S.E.) cinsinden sunuldu. Beş grup arasında ölçülen parametrelerdeki farklılıklar, parametrik olmayan bir testle (Kruskal-Wallis) analiz edildi ve anlamlı değerler sergileyen gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U-testi ile değerlendirildi ($p < 0.05$).

4. BULGULAR

4.1. Nörolojik Muayene Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tablo 4.1. Deney gruplarının modifiye tarlov skalasının (MTS) karşılaştırılması

| Analyses | Grup1 | Scores | | | |
|----------|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | G2 | G3 | G4 | G5 |
| MTS | 5.00+0.00 ^A | 4.83+0.17 ^{AC} | 1.50+0.67 ^B | 2.83+0.83 ^{BC} | 4.67+0.33 ^{AC} |

A,B,C; Üst simge harfleri istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05). Parametreler ortalama±sem olarak sunulmuştur.

Tablo 4.1’ de gösterildiği gibi Grup III ve Grup IV değerlerindeki düşüş Grup I’ e göre istatistiksel olarak önemlidir (p < 0,05).

Grup III; Grup II ve Grup V’ e göre değerlerindeki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (p < 0,05).

Tablo 4.2. Deney gruplarının parmak açma testinin (PAT) karşılaştırılması

| Analyses | Grup1 | Scores | | | |
|----------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | G2 | G3 | G4 | G5 |
| PAT | 2.00+0.00 ^A | 2.00+0.00 ^A | 0.50+0.22 ^B | 1.00+0.37 ^{BC} | 1.83+0.17 ^{AC} |

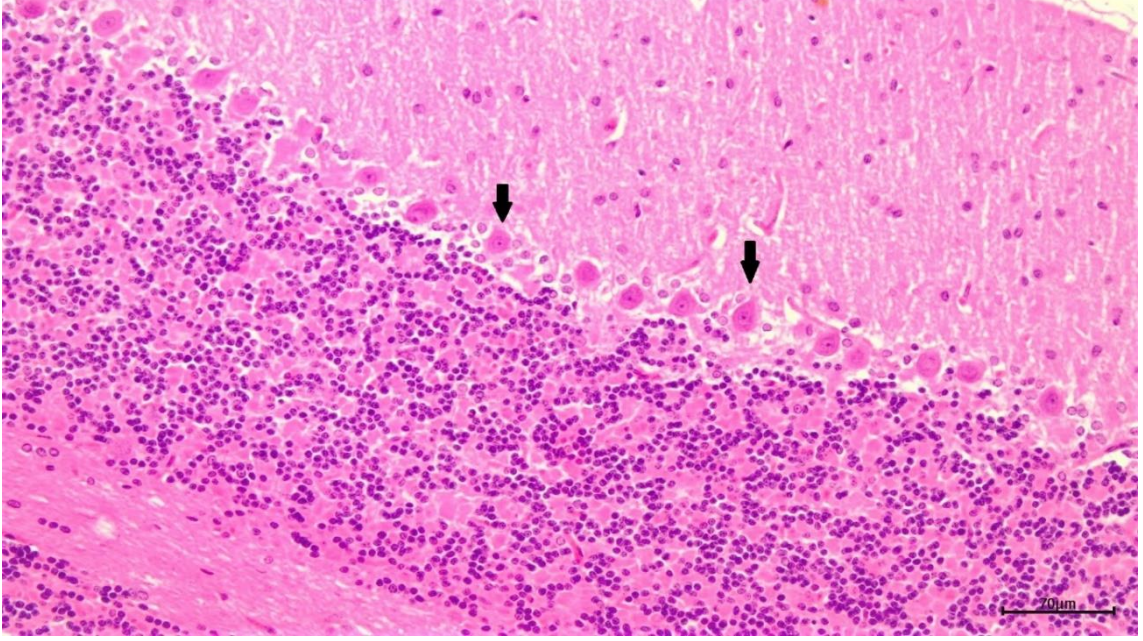
A,B,C; Üst simge harfleri istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Tablo 4.2’ de gösterildiği gibi Grup I, Grup II ve Grup V birbirine benzer; Grup III ve IV istatistiksel olarak Grup I ve Grup II’ den farklıdır (p <0.05) ancak Grup IV ve Grup V arasında istatistiksel farklılık yoktur.

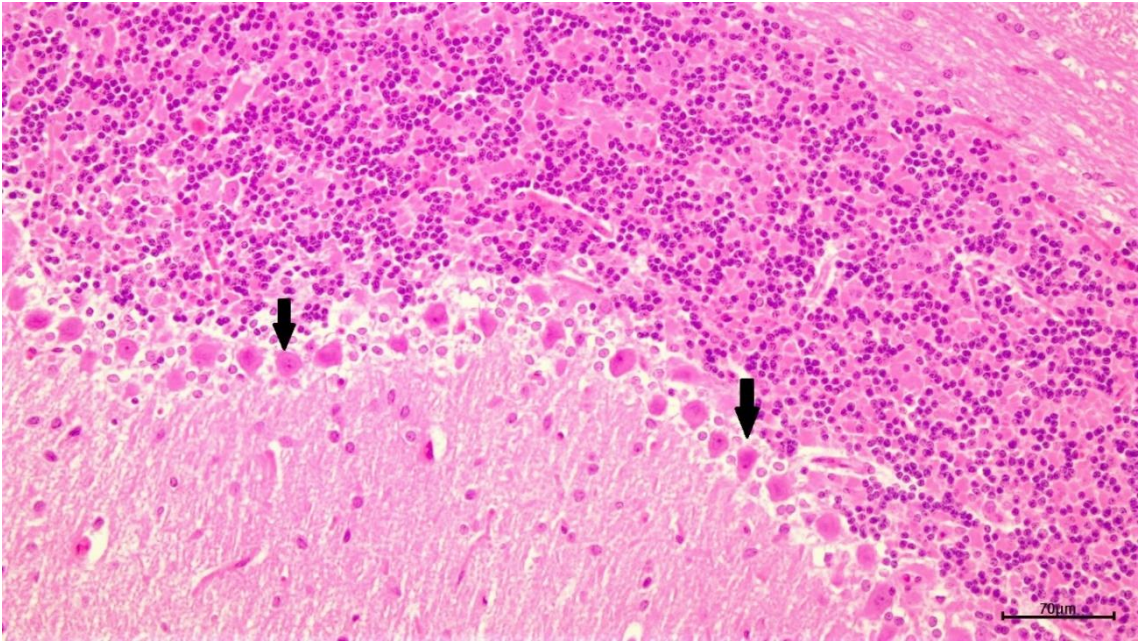
4.2. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubunda herhangi bir patolojik bulgu gözlenmedi. Grup II’ de bazı purkinje hücrelerinde dejeneratif değişiklikler izlenmiştir. Grup III çalışmada en ağır patolojik lezyonların izlendiği gruptur. Yoğun dejenerasyon ve nekroz ile birlikte kontrol grubuna

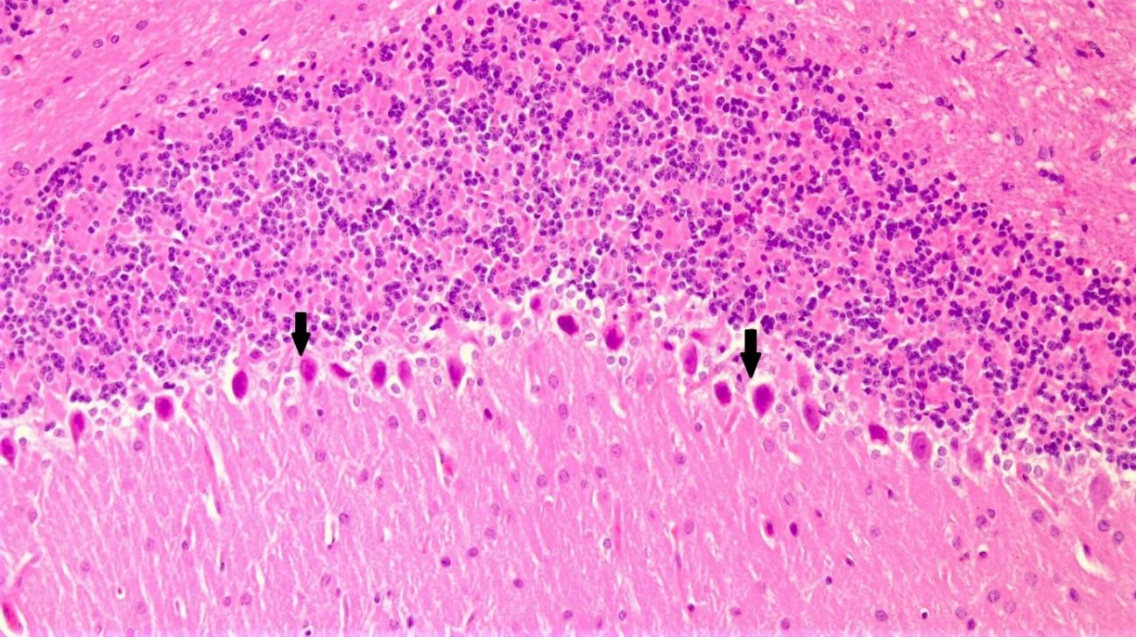
kıyasla nöron ve purkinje hücre sayısında ciddi azalma olduğu gözlemlenmiştir. Grup IV ve grup V' de yer yer dejenerasyon ve nekroz bulguları gözlenmiştir. Bu iki grupta gözlenen lezyonlar grup III' e kıyasla hem şiddet hem yoğunluk bakımından daha düşük seviyededir.



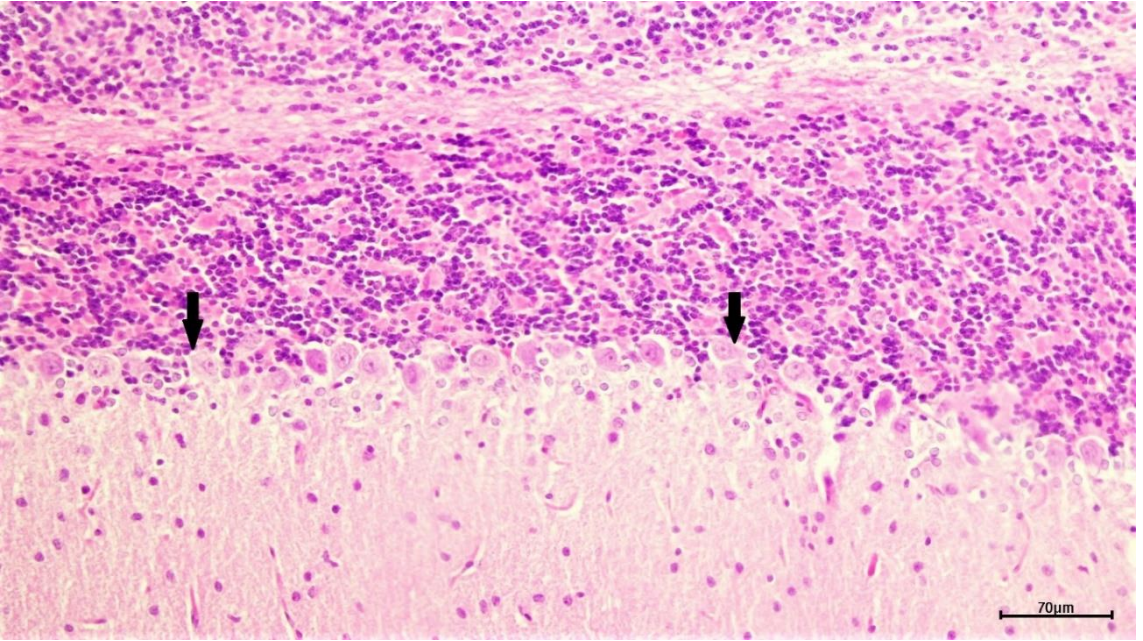
Şekil 4.2. Kontrol Grubu, Normal Serebellum ve Purkinje Hücreleri (Oklar) (H&E, 70 µm)



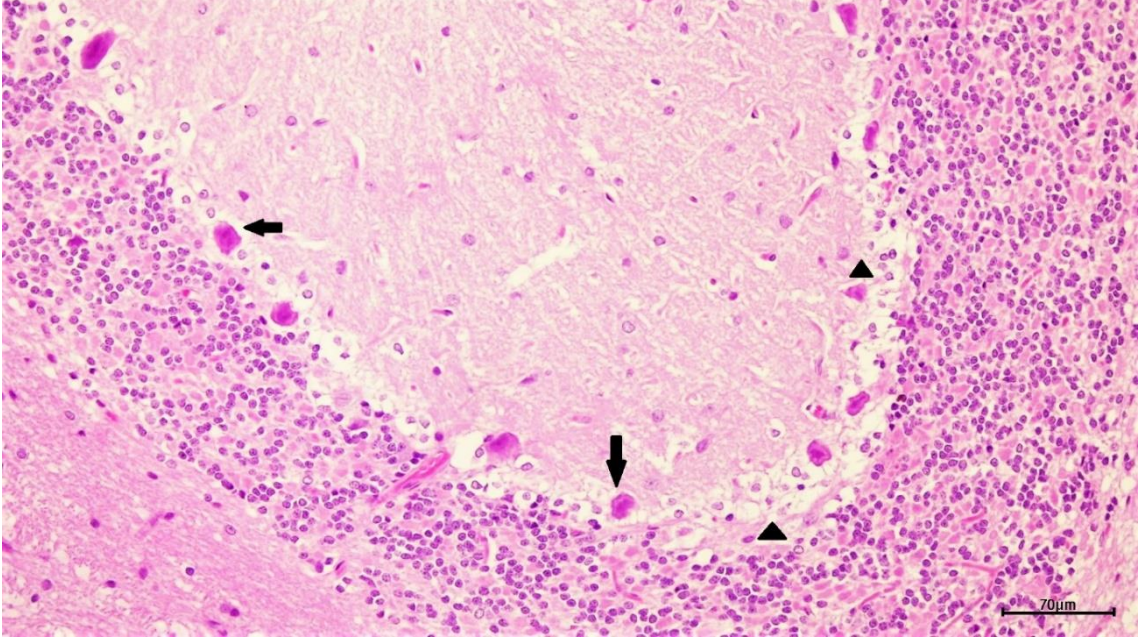
Şekil 4.3. Kontrol Grubu, Normal Serebellum ve Purkinje Hücreleri (Oklar) (H&E, 70 µm).



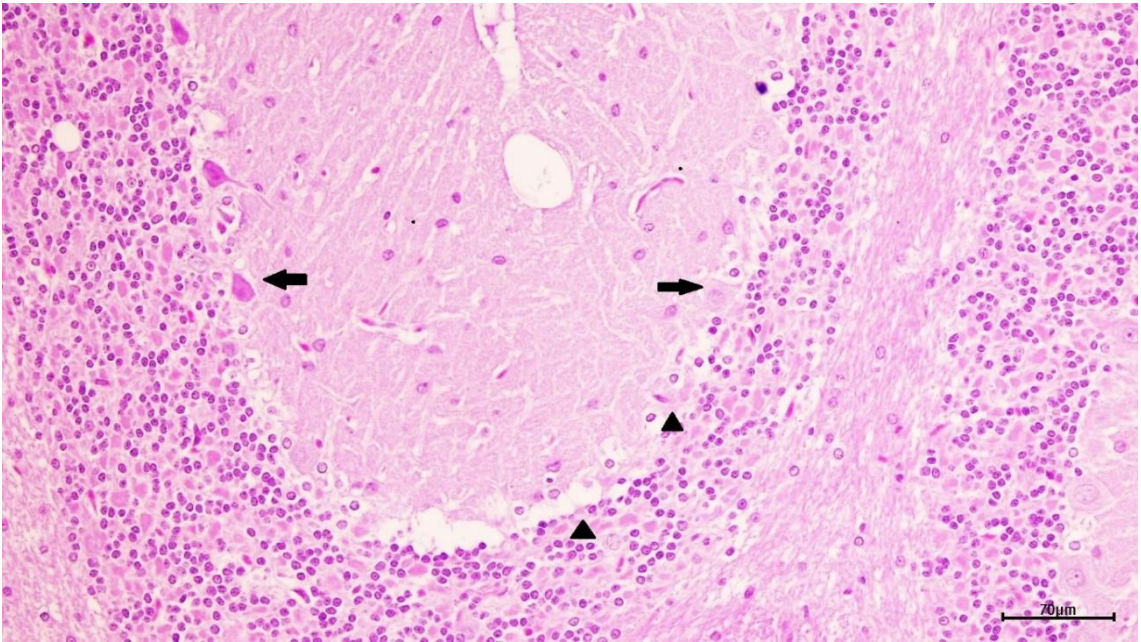
Şekil 4.4. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon (Oklar). Grup 2. (H&E, 70 µm).



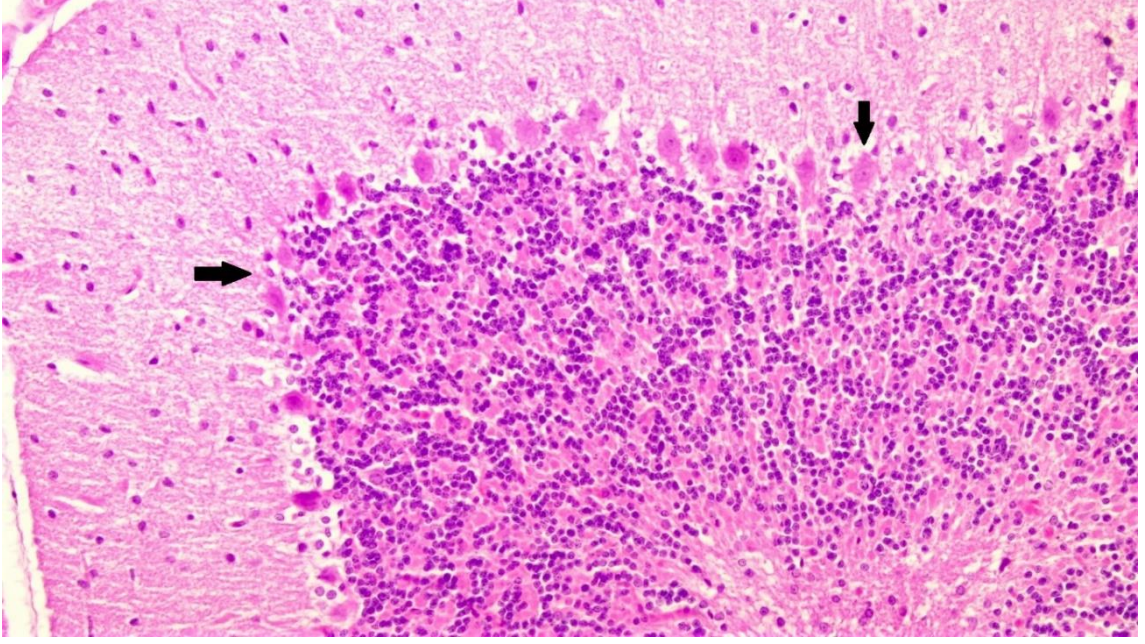
Şekil 4.5. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon (Oklar). Grup 2. (H&E, 70 µm).



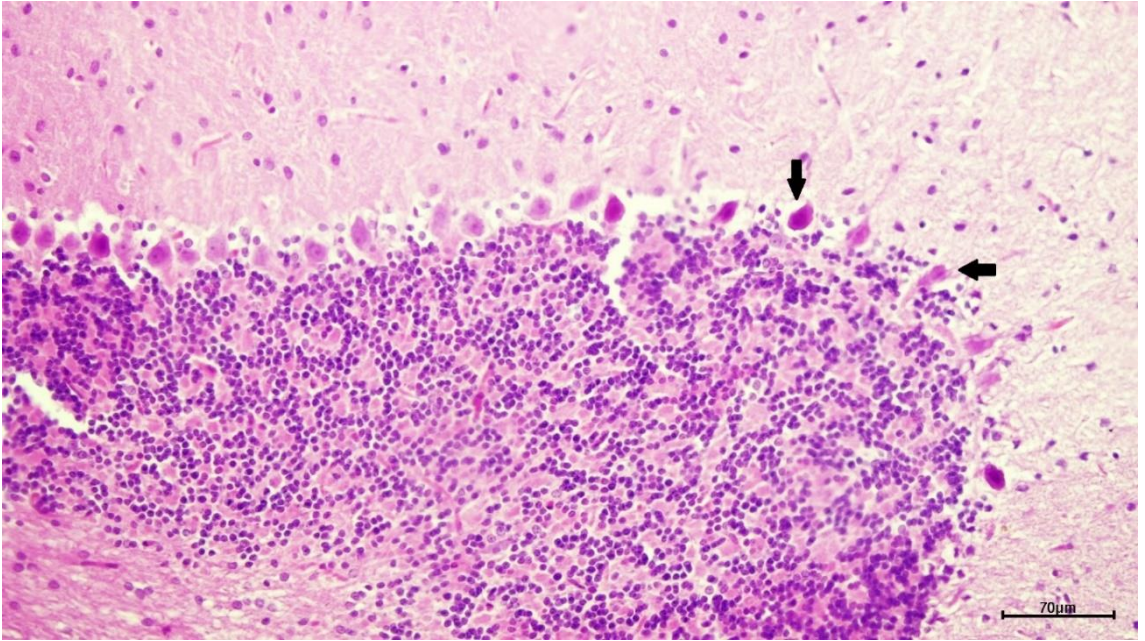
Şekil 4.6. Purkinje Hücrelerinde Nekroz (Oklar), Fagositoz Yolu ile Tamamen Yok Olan Purkinje Hücre Grup Lokalizasyonları (Ok Başları). Grup 3. (H&E, 70 μm).



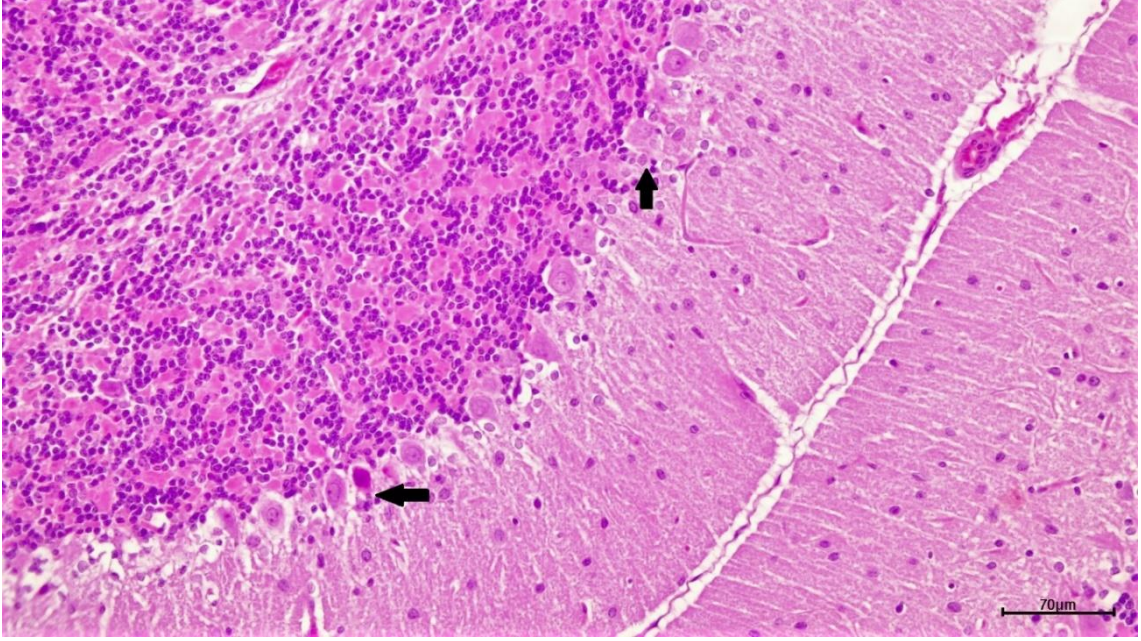
Şekil 4.7. Purkinje Hücrelerinde Nekroz (Oklar), Fagositoz Yolu ile Tamamen Yok Olan Purkinje Hücre Grup Lokalizasyonları (Ok başları). Grup 3. (H&E, 70 μm).



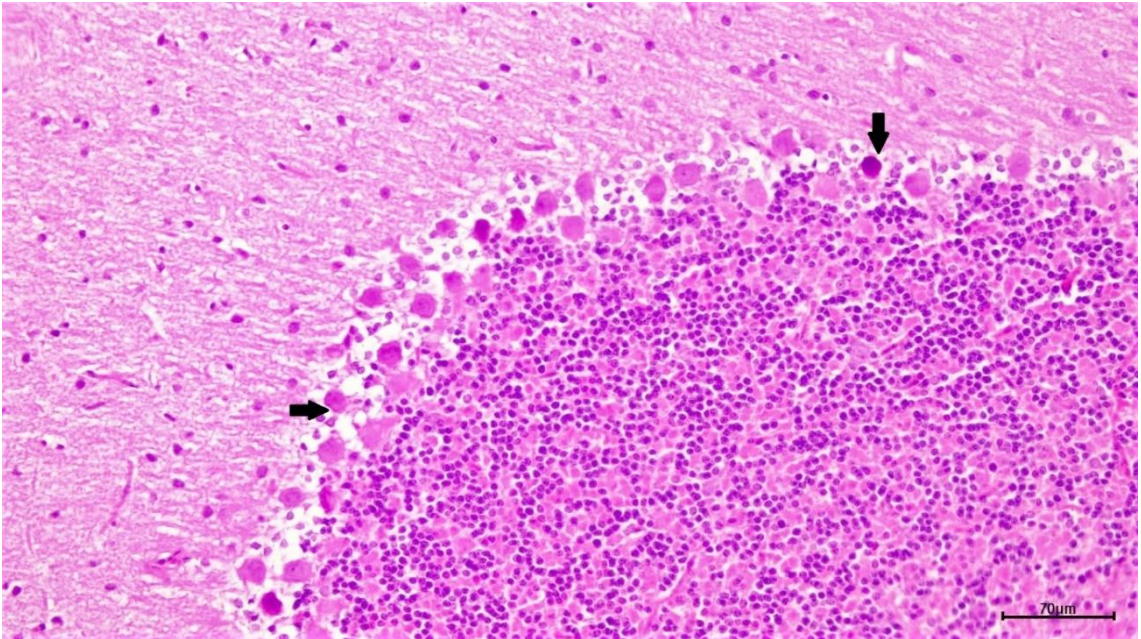
Şekil 4.8. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon (Oklar). Grup 4. (H&E, 70 µm).



Şekil 4.9. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon ve Nekroz (Oklar). Grup 4. (H&E, 70 µm).



Şekil 4.10. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon ve Nekroz (Oklar). Grup 5. (H&E, 70 μm).

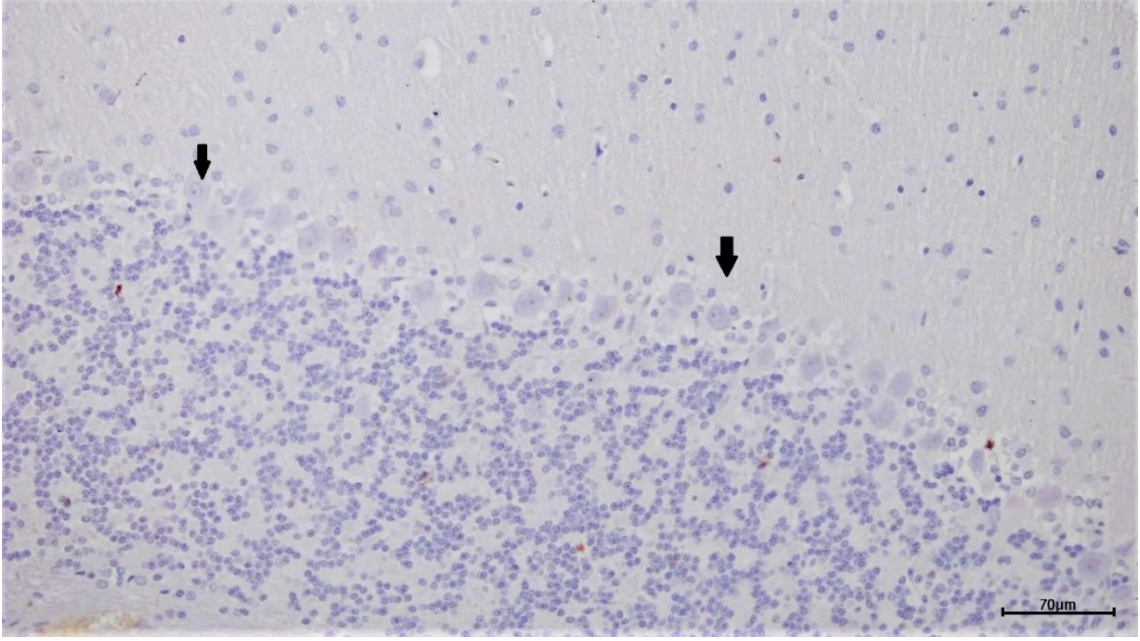


Şekil 4.11. Purkinje Hücrelerinde Dejenerasyon ve Nekroz (Oklar). Grup 5. (H&E, 70 μm).

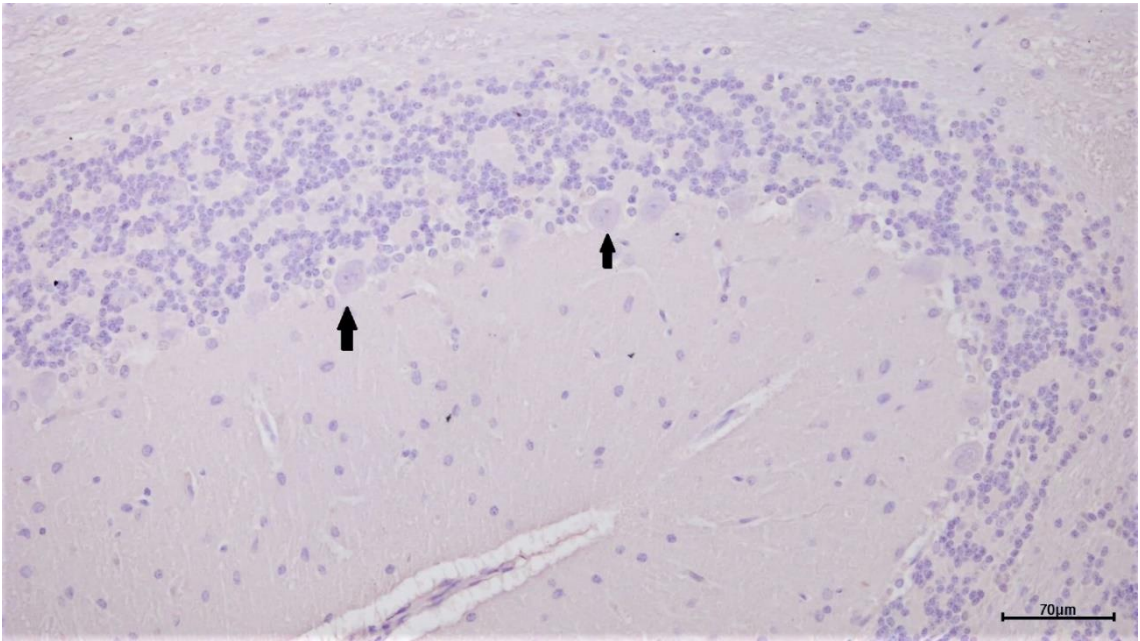
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular

Grup I' de (Kontrol grubu) az sayıda kaspaz -3 pozitif hücre sayılmıştır. Grup II' de kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan pozitif hücre sayısının fazla olduğu gözlenmiştir. Grup III 'de kaspaz-3 pozitif hücre sayısı ve pozitif reaksiyon belirginliği istatistiksel olarak tüm gruplardan daha fazla olduğu görülmüştür. Grup IV ve Grup V

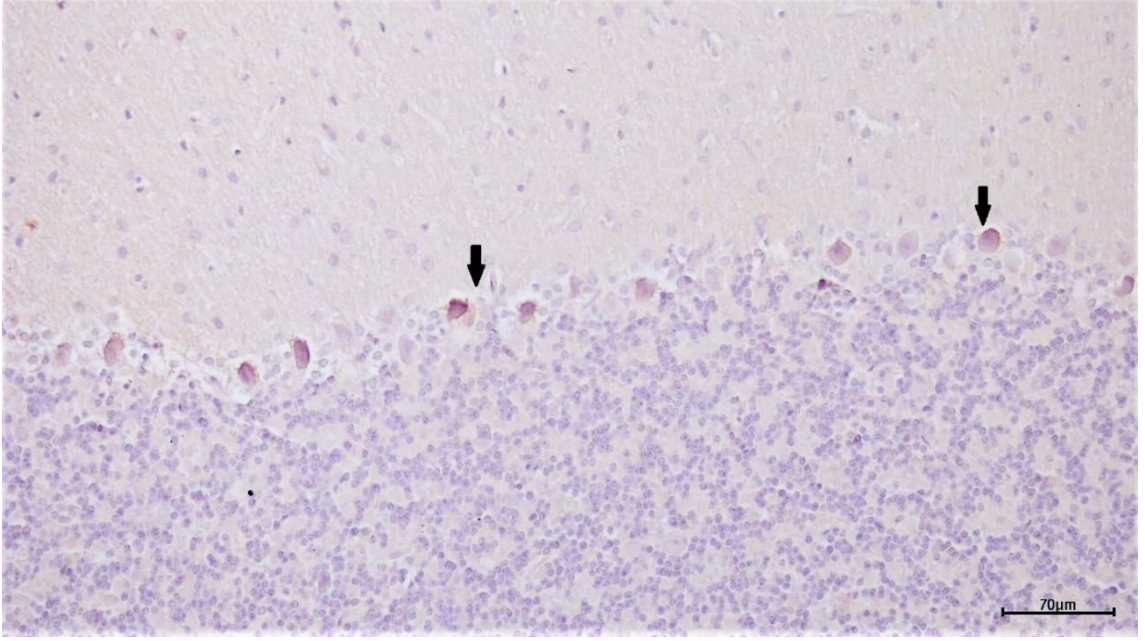
'de kaspaz -3 pozitif hücre sayısı Grup II'ye kıyasla daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte bu iki grup arasında pozitif hücre sayısı ve reaksiyon belirginliği açısından istatistiksel açıdan bir fark tespit edilememiştir.



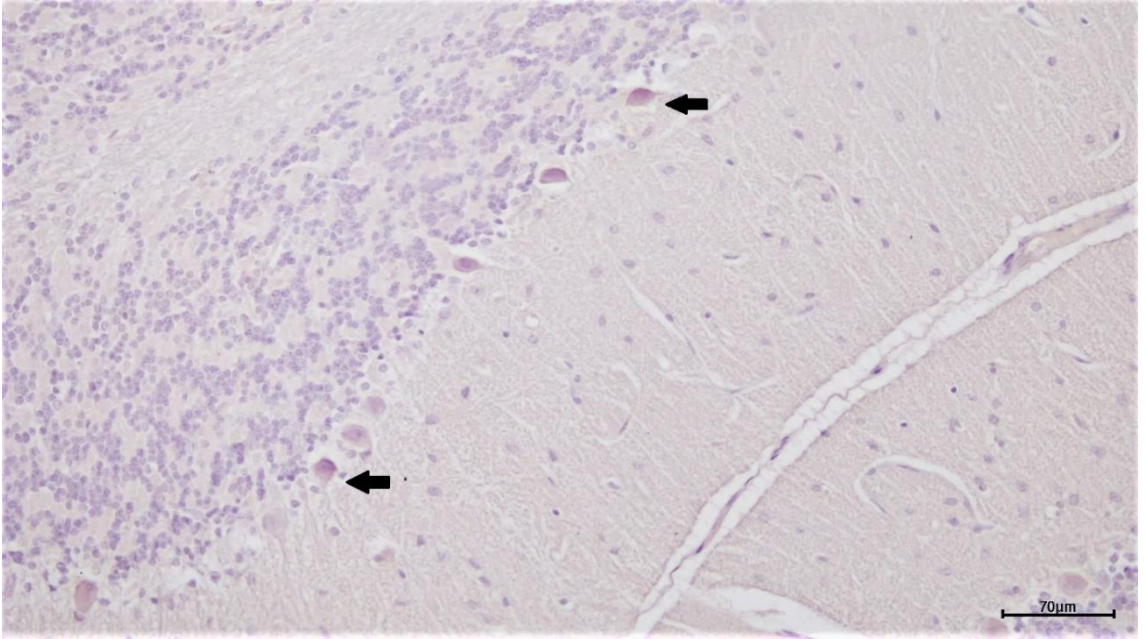
Şekil 4.12. Kontrol Grubu Serebellum, Caspase -3 Negatifliği. (IHC, 70 µm)



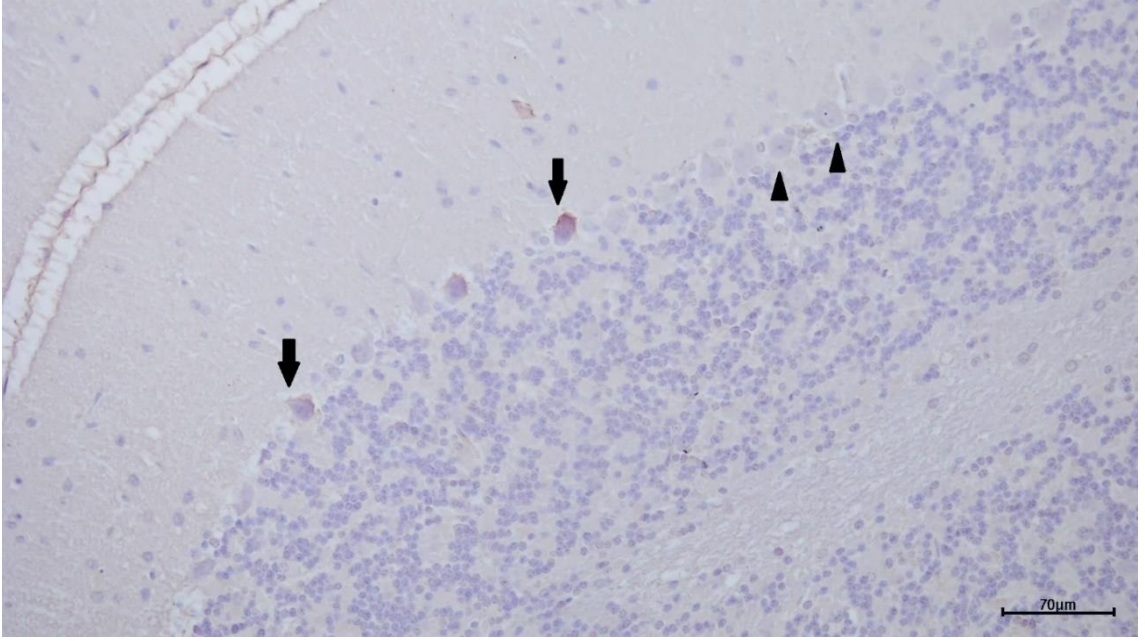
Şekil 4.13. Caspase -3 Negatifliği. Grup 2. (IHC, 70 µm)



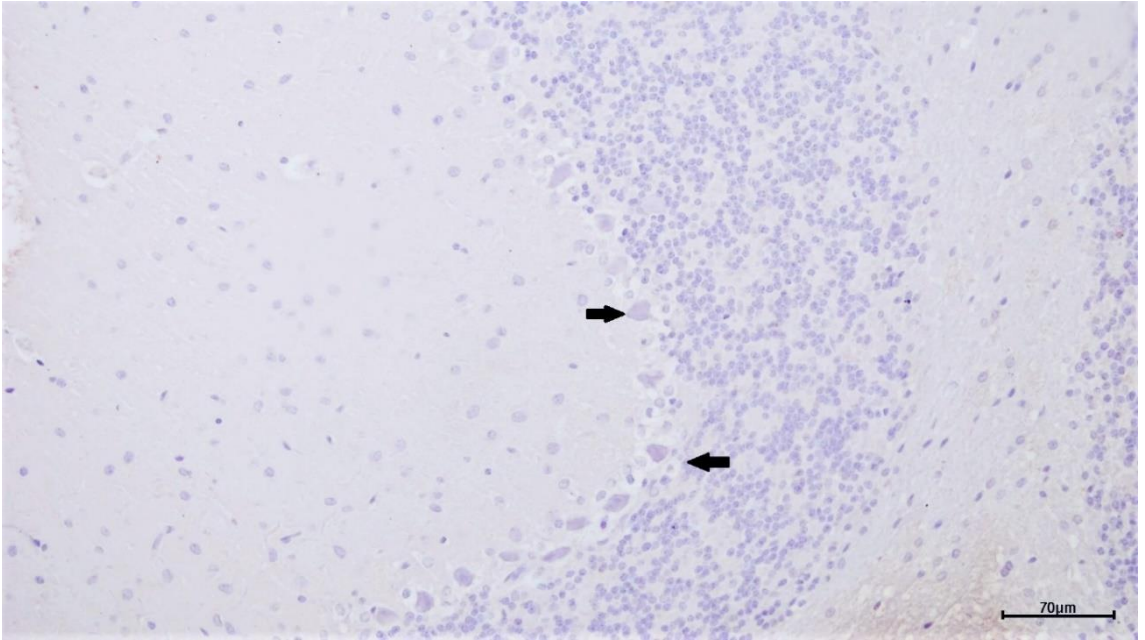
Şekil 4.14. Güçlü Caspase -3 Pozitifliği . Grup 3. (IHC, 70 μm)



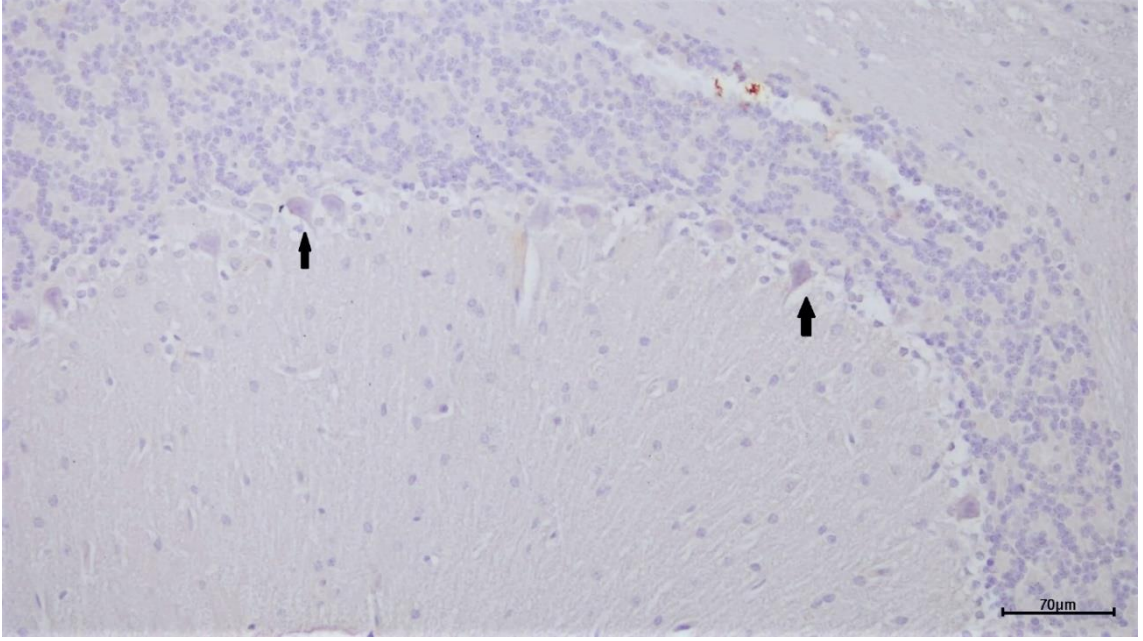
Şekil 4.15. Güçlü Caspase -3 Pozitifliği . Grup 3. (IHC, 70 μm)



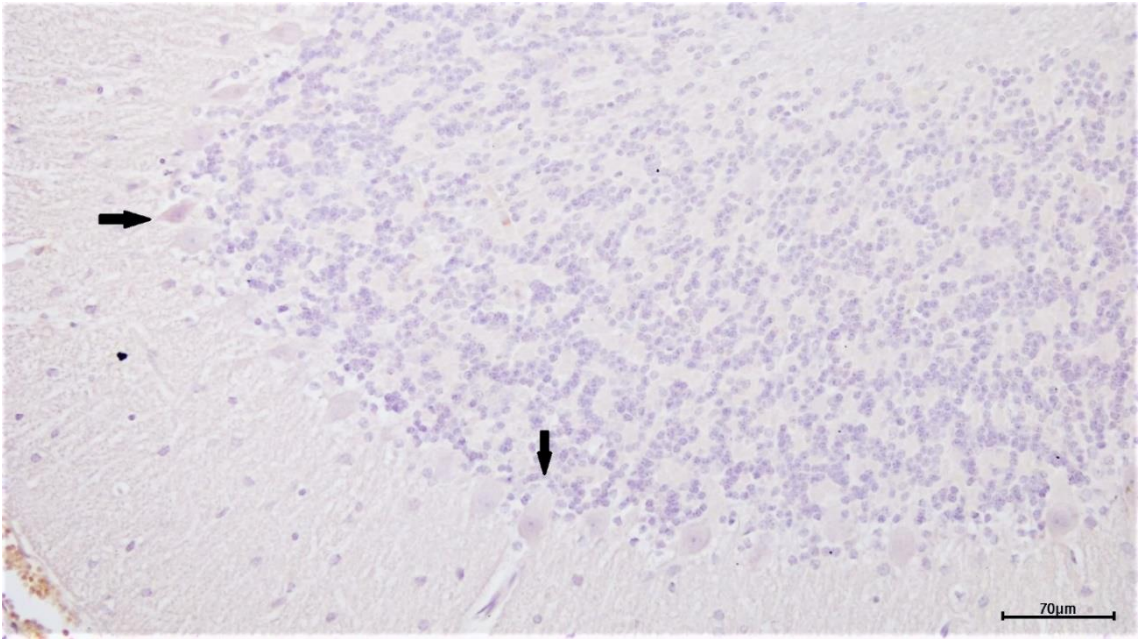
Şekil 4.16. Caspase -3 Pozitif Purkinje Hücreleri (Oklar), Caspase-3 Negatif Purkinje Hücreleri (Ok Başları). Grup 4. (IHC, 70 µm)



Şekil 4.17. Zayıf Caspase -3 Pozitifliği . Grup 4. (IHC, 70 µm)



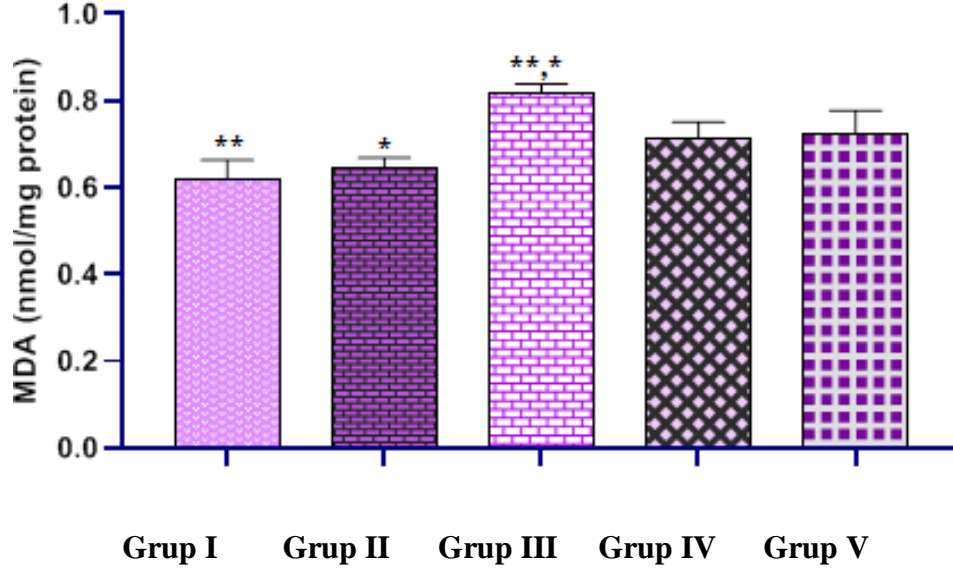
Şekil 4.18. Zayıf Caspase -3 Pozitifliği . Grup 5. (IHC, 70 μm)



Şekil 4.19. Zayıf Caspase -3 Pozitifliği . Grup 5. (IHC, 70 μm)

4.4. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 4.3. Spinal kord dokusunda tespit edilen MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı Grup I, Grup II, Grup III, Grup IV, Grup V (** $p<0.01$; $*p<0.05$).



Sunulan çalışmada Grup I ile karşılaştırıldığında Grup II anlamlı olmayan ($p>0.05$) kısmi bir artış gözlemlenirken, Grup I ve Grup II'e oranla Grup III' te MDA düzeyinin istatistiksel açıdan anlamlı olarak ($p<0.01$; $p<0.05$) arttığı belirlenmiştir. MDA düzeyinde gözlemlenen bu artışın hasar oluşumunun bir göstergesi olduğu söylenebilir. Grup III te artan MDA düzeyinin Grup IV ve Grup V te azaldığı($p>0.05$) belirlenmiştir. Bu sonuç göz önüne alındığında *Clitoria ternatea* ekstraktının laminektomi ile oluşturulan spinal kord hasarını önlemede ve tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

5. TARTIŞMA

Travmatik spinal kord yaralanmaları hem beşeri hem de veteriner hekimlikte yaşam kalitesini ciddi olarak etkileyebilen hastalıklardandır. Kedi ve köpeklerde travmatik spinal kord yaralanmasının kesin insidansı bilinmemektedir. SKT'nin patofizyolojik sonuçları primer ve sekonder hasar mekanizmaları tarafından sağlanır. Primer hasar, spinal kordun fiziksel yaralanmasıdır yani ilk darbe aldığı anda oluşan yaralanmadır ve engellenemez. Primer hasar oluşmasından sonra meydana gelen çeşitli patofizyolojik olayları içeren kısım ise sekonder hasar olarak adlandırılmaktadır. (Webb ve ark. 2010). SKT' de primer hasarın önlenmesi mümkün olmadığı için yapılan tüm çalışmalar sekonder hasarı önlemeye yöneliktir. Güncel tedavi yöntemlerinde amaç canlı nöral dokunun sekonder hasarını önlemek veya bu hasarın sonuçlarını en aza indirmektir (Öztürk ve ark. 2020). Bu hasar fazındayken spinal kordun daha fazla zarar gördüğü ve buna bağlı olarak travma sonrası hücre ölümünün devam etmesine neden olduğu tespit edilmiştir (Ilhan ve ark. 1999; Onifer ve ark. 2007). SKT'de nörolojik fonksiyonların geri dönüşünü sağlayabilecek yeni bir tedavi seçeneğinin bulunması hem mortalite hem de morbiditenin azalmasına yardımcı olabilir (Polat ve ark. 2012). Sekonder hasar fazında travma alanında ortaya çıkan serbest radikaller oksidatif stresin artmasına ve lipid peroksidasyona sebep olmaktadır. Bu amaçla da serbest oksijen radikalleri tarafından üretilen oksidatif hasarı azaltmada veya ortadan kaldırmada akut ve kronik bir rol oynayan antioksidanlar kullanılmaktadır (Aslan ve ark. 2012). *Clitoria ternatea* Fabaceae familyasından çok yıllık otsu bir bitkidir. Hem modern tıpta hem de tarımda potansiyel uygulamaları olduğu ve antioksidan kaynağı olduğu için son zamanlarda çok ilgi görmüştür. Çok sayıda hayvan çalışması, ekstrelerin diüretik, nootropik, antiastmatik, anti-inflamatuar, analjezik, antipiretik, antidiyabetik, antilipidemik, anti-artritik, antioksidan ve yara iyileştirici özellikler sergilediğini bildirmiştir (Georgianna ve ark. 2019; Chandrajith ve ark. 2021). Bu bitkiden polifenolik flavonoidler, antosiyanin glikozitler, pentasiklik triterpenoidler ve fitosteroller gibi çeşitli ikincil metabolitler rapor edilmiştir (Nithianantham ve ark. 2011; Fu ve ark. 2021). Antosiyaninlerin, oksidatif hasarı ve yangıyı hafiflettiği, tümör hücrelerinde apoptozu tetiklediği, vasküler endotelial fonksiyonunu iyileştirdiği, lipoprotein oksidasyonunu azalttığı, lipoprofilleri normalleştirdiği, trombosit reaktivitesini azalttığı, DNA hasarını

onardığı ve nörotoksitenin iyileştirilmesine katkı sağladığı tespit edilmiştir (Afacan ve Sönmezdağ, 2020). Bu bilgiler ışığında *Clitoria ternatea* antiyosinleri nöroprotektif ve terapötik bir ajan olmak için iyi bir potansiyele sahip olabileceği düşünüldü ve bu çalışma sayesinde SKTde sekonder hasarlara karşı *Clitoria Ternatea* ekstraktının nöroprotektif ve terapötik etkisi klinik muayneleri, biyokimyasal, histopatolojik ve imminohistokimyasal olarak ilk kez ortaya konuldu.

SKT modelleri Allen tarafından 1911'de ilk kez denenen ağırlık düşürme modelini geliştirmesinden bu yana yıllar içerisinde önemli ölçüde gelişti ve bu sayede travmatik SKT' de yer alan mekanizmaları daha iyi anlamada ve deneysel terapötik müdahalelerin etkinliğini değerlendirmede çok önemli olduğu kanıtlanmıştır. Bizde bu çalışmamızda benzer şekilde ağırlık düşürme modeli kullanarak bir spinal kord hasarı oluşturmayı tercih ettik.

SKT'nin patofizyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun sekonder hasarın gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Travma nedeniyle artan oksidatif stres sonucu ortamda yoğun bulunan serbest radikaller lipitlerle reaksiyona girerek lipit peroksidasyona neden olurlar. Yoğun lipit içeriğine sahip olan spinal kord hücreleri lipit peroksidasyonu sonucunda da membran yapılarını kaybederek parçalanmaktadırlar (Kertmen ve ark. 2018). Lipit peroksidasyonun son ürünü MDA' dır. MDA seviyelerindeki artış dokularda ve vücut sıvılarında serbest radikallerin toksik aktivitesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu durum spinal kord travması gibi nörolojik hasara neden olan durumlarla ilişkilendirilebilir çünkü bu tür travmalardan sonra oksidatif stres artışına bağlı olarak doku hasarı daha da kötüleşebilmektedir. Metilprednizolon anti-lipid peroksidasyon ve nöroprotektif etkilerinden dolayı günümüzde hala spinal kord yaralanmalarında en sık kullanılan klinik ajandır. Travma sonrası ilk 24 saat içinde yüksek doz uygulanan kortikosteroidlerin nörolojik yararlarına rağmen mide kanaması, sepsis, pnömoni, akut miyopati ve enfeksiyon gibi ciddi yan etkilere sahiptir, bu sebeple sekonder hasara karşı diğer nöroprotektif ajanların kullanımına odaklanan çalışmaları gerekli kılmıştır (Hancı ve ark. 2010; Kavaklı ve ark. 2011; Atanur ve ark. 2018).

Sıçanlarda spinal kord yaralanmasında curciminin antioksidan etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında 24 adet Wistar albino sıçanı rastgele 3 gruba ayrılmışlar ve spinal kord

yaralanmasını ağırlık düşürme modeliyle gerçekleştirmişlerdir. Grup I'e laminektomi ardından spinal kord yaralanması uygulanıp herhangi bir tedavi uygulanmamış, Grup II'ye laminektomi ardından spinal kord yaralanması uygulanıp tedavi olarak curcumin verilmiş (200 mg/kg/gün ağızdan), Grup III'e laminektomi ardından spinal kord yaralanması uygulanıp tedavi olarak metilprednizolon verilmiştir (30 mg/kg periton içine) ve 24 saat sonra tüm sıçanlardan kan örnekleri alınıp malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlenmiştir ve Grup II nin MDA düzeyinin Grup I'e göre daha düşük bulunmuştur ($p < 0,042$) (Kavaklı ve ark. 2011). Çalışmamızda curcumin gibi antioksidan kapasitesi yüksek olan *Clitoria ternatea* ekstraktının da oksitativ hasara karşı spinal kord dokularını koruduğu tespit edildi. Çalışmamızda Grup I ile karşılaştırıldığında Grup II anlamlı olmayan ($p > 0,05$) kısmi bir artış gözlemlenirken, Grup I ve Grup II'e oranla Grup III' te MDA düzeyinin istatistiksel açıdan anlamlı olarak ($p < 0,01; p < 0,05$) arttığı belirlenmiştir. MDA düzeyinde gözlemlenen bu artışın hasar oluşumunun bir göstergesi olduğu söylenebilir. Grup III te artan MDA düzeyinin Grup IV ve Grup V te azaldığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir. Bu sonuç göz önüne alındığında *Clitoria ternatea* ekstraktının laminektomi ile oluşturulan spinal kord hasarını önlemede etkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki tüm gruplara nörolojik muayenelerini değerlendirmek için modifiye tarlov skorlaması ve parmak açma testi uygulandı. Modifiye tarlov skorlaması sonucu Grup III'teki deneklerin çoğunlukla paraplejik olduğu görülürken Grup V' e göre değerlerindeki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$). Parmak açma testi sonucu Grup IV ve Grup V arasında istatistiksel farklılık yoktur.

Apoptozisin değerlendirilmesinde kullanılan önemli ve güvenilir biyokimyasal belirteçlerden biri de kaspaz 3' tür. Bu sebeple birçok SKT modelinde de kaspaz 3 aktivasyonu apoptozisin güvenilir bir belirteci olarak kullanılmaya devam edilmektedir (Solaroglu ve ark. 2005; Barut ve ark. 2005; Ding ve ark. 2023). Çalışmamızda *Clitoria ternatea* ekstraktının tedavisinin spinal kord yaralanmalarında antiapoptotik etkilerini değerlendirmede doku kaspaz-3 değerlerine bakıldı. Grup III' de kaspaz-3 pozitif hücre sayısı ve pozitif reaksiyon belirginliği istatistiksel olarak Grup IV ve Grup V' den daha fazla olduğu görülmüştür. Bununla birlikte Grup IV ve Grup V arasında pozitif hücre sayısı ve reaksiyon belirginliği açısından istatistiksel açıdan bir fark tespit edilememiştir. Bu sonuçlara göre değerlendirildiğinde *Clitoria ternatea* ekstraktının

spinal kord yaralanmalarında antiapoptotik etki göstererek tedaviye olumlu katkılar sağladığı tespit edildi.

Çalışmamızın histopatolojik değerlendirilmesi sonucunda nöral dejenerasyon ve nekroz gibi en ağır patolojik lezyonlar Grup III' te olduğu tespit edildi. Ayrıca Grup IV ve Grup V' te tespit edilen lezyonların Grup III' e kıyasla hem şiddet hem yoğunluk bakımından daha düşük seviyede olduğu tespit edildi. Bu sonuçlara göre *Clitoria ternatea*'nın nöral doku üzerinde dejenerasyon ve nekroz gibi patolojik lezyonları önlemede olumlu katkılar sağladığı tespit edildi. Çalışmamızda histopatolojik sonuçlar ile immunohistokimyasal sonuçlarının birbirini destekler olduğu görüldü.

Literatür taramamızda *Clitoria ternatea* ekstraktının deneysel SKT'de sekonder hasar üzerine etkisinin daha önce araştırılmadığı belirlendi. Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma deneysel SKT'de sekonder hasarın sıçanlarda *Clitoria ternatea* ekstraktı ile tedavisine ilişkin ilk çalışmadır. Çalışma sonucunda *Clitoria ternatea*'nın deneysel SKT' de sekonder hasar üzerinde hem nöroprotektif hem de terapötik etkilere sahip olduğu ortaya konuldu bu yüzden SKT' de sekonder hasarlara karşı iyi bir seçenek olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen nörolojik muayene, biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal verileri sonucunda, antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkisi olan *Clitoria ternatea* ekstraktı tedavisinin SKT de nöroprotektif ve teröpatik etki sağladığı ortaya konuldu. Birçok çalışmada olduğu gibi bu çalışmada da bazı kısıtlamaları vardı. Deneyde kullanılan deneklerin takip süresinin uzatılarak kullanılan ajanın uzun dönem etkinliklerinin değerlendirilmesi, nöroprotektif ve terapötik etkilerin değerlendirmesinde kullanılan biyokimyasal parametrelerin arttırılması, tedavide kullanılan ajanın kullanım şekilleri, doz aralıkları ve miktarları değiştirilmesi ve doz bağımlı sonuçların elde edilmesi, başka ajanlarla kombine tedavilerin denenmesi gibi yöntemler kullanılarak daha detaylı sonuçlar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

Alizadeh, A, Dyck, SM, and Karimi-Abdolrezaee, S. (2019). Traumatic spinal cord injury: an overview of pathophysiology, models and acute injury mechanisms. *Frontiers in neurology*, 10, 282.

Ambrozaitis KV, Kontautas E, Spakauskas B, and Vaitkaitis D. (2006). Pathophysiology of acute spinal cord injury. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 42(3), 255-261.

Anjum A, Yazid MD, Daud MF, Idris J, Ng AMH, Selvi Naicker A. et al. (2020). Spinal cord injury: pathophysiology, multimolecular interactions, and underlying recovery mechanisms. *International journal of molecular sciences*, 21(20), 7533.

Kuru A, Yazar U, Karahan SC, Saygın İ, ve Yaman SÖ. (2018). Sıçanlarda Deneysel Spinal Kord İskemi/Reperfüzyon Yaralanmasında Karvedilol'un Etkileri Effects Of Carvedilol On Experimental Spinal Cord Ischemia/Reperfusion Injury İn Rats. *Bozok Tıp Dergisi*, 8(4), 74-80.

Bahadır A, Yıldız B, Serbest A, Yılmaz O, ve Yıldız H. (1994). Türk çoban köpeği (KARABAŞ) ile Alman kurt köpeğinin merkezi sinir sistemleri üzerinde karşılaştırmalı makro-anatomik ve subgross araştırmalar. III: Spinal sinir köklerinin bazı morfolojik ve morfometrik özellikleri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(37-48).

Bains M and Hall ED. (2012). Antioxidant therapies in traumatic brain and spinal cord injury. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(5), 675-684.

Barut Ş, Ünlü YA, Karaoğlan A, Tunçdemir M, Dağistanlı FK, Öztürk M ve Çolak A. (2005). The neuroprotective effects of z-DEVD. fmk, a caspase-3 inhibitor, on traumatic spinal cord injury in rats. *Surgical neurology*, 64(3), 213-220.

Baykal S, Ceylan S, Aktürk F, Usul H, Efe H, Aliyazıcıoğlu Y ve ark. (1995). Effects Of A Calcium Channel-Blocking Agent, Nimodipine, On Injured-Spinal Cord Na⁺-K⁺-Atpase Activity. *Turkish Neurosurgery*, 5(1-2).

Bolat D, Bahar S, Sur E, Selçuk M ve Tipirdamaz S. (2012). Selective gray and white matter staining of the horse spinal cord. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(2), 249-254.

Boyalı O, Cıvelek E ve Kabataş S. (2020). Travmatik Omurilik Yaralanmasında Konservatif Tedavi (Güncel Farmakolojik Tedavi Yöntemleri). *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 30(3), 466-474.

Büyükkınacı S, Ofluoğlu E ve Toplamaoğlu H. (2008). Spinal kord tarihi. *Journal of Nervous System Surgery*, 1(1), 67-72.

Cemil B, Gökce EC, Erdamar H, Karabörk A, ONUR Ö, Okcu AH. ve ark. (2012). Effects of the aged garlic extract on spinal cord injury model in rat. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 18(6), 463-468.

Cheng Z, Lin T, Chen W, Wu W and Yan S. (2016). The effect of erythropoietin in the treatment of acute spinal cord injury. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 9(11), 22267-74.

Chinnock P and Roberts I. (2005). Gangliosides for acute spinal cord injury. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2 (2).

Collins WF. (1983). A Review And Update Of Experiment And Clinical Studies Of Spinal Cord Injury, 2. *Paraplegia*, 21, 204-219.

Cox A, Varma A and Banik N. (2015). Recent advances in the pharmacologic treatment of spinal cord injury. *Metabolic brain disease*, 30, 473-482.

Cox A, Varma A and Banik N. (2015). Recent advances in the pharmacologic treatment of spinal cord injury. *Metabolic brain disease*, 30, 473-482.

DiFazio J and Fletcher DJ. (2013). Updates in the management of the small animal patient with neurologic trauma. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 43(4), 915-940.

Ding LLQ, Hu SF, He XW, Zhang P, Zhao FF, Cheng LH. et al. (2023). Warm acupuncture therapy alleviates neuronal apoptosis after spinal cord injury via inhibition of the ERK signaling pathway. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, 46(5), 798-806.

Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB. et al. (2001). Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. *Clinical neuropharmacology*, 24(5), 254-264.

Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB. et al. (2001). Acute spinal cord injury, part II: contemporary pharmacotherapy. *Clinical neuropharmacology*, 24(5), 265-279.

Elliott WJ and Ram CVS. (2011). Calcium channel blockers. *The Journal of Clinical Hypertension*, 13(9), 687.

Fakhri S, Abbaszadeh F and Jorjani M. (2021). On the therapeutic targets and pharmacological treatments for pain relief following spinal cord injury: A mechanistic review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111563.

Fatima G, Sharma VP, Das SK and Mahdi AA. (2015). Oxidative stress and antioxidative parameters in patients with spinal cord injury: implications in the pathogenesis of disease. *Spinal cord*, 53(1), 3-6.

Fehlings MG, Tetreault LA, Wilson JR, Kwon BK, Burns AS, Martin AR. et al. (2017). A clinical practice guideline for the management of acute spinal cord injury: introduction, rationale, and scope. *Global spine journal*, 7(3_suppl), 84S-94S.

Geisler FH, Dorsey FC and Coleman WP. (1990). GM1 gangliosides in the treatment of spinal cord injury: report of preliminary data analysis. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 50(4-5), 515-21.

Gollen B, Mehla J and Gupta P. (2018). Clitoria ternatea Linn: a herb with potential pharmacological activities: future prospects as therapeutic herbal medicine. *Journal of pharmacological Reports*, 3(1), 1-8.

Hall ED. (2011). Antioxidant therapies for acute spinal cord injury. *Neurotherapeutics*, 8, 152-167.

Hanci V, Kerimoğlu A, Koca K, Başkesen A, Kilic K ve Taştekin D. (2010). The biochemical effectiveness of N-acetylcysteine in experimental spinal cord injury in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 16(1), 15-21

Hatwalne MS. (2012). Free radical scavengers in anaesthesiology and critical care. *Indian journal of anaesthesia*, 56(3), 227.

Hazıroğlu RM, Orhan İÖ, Yıldız D ve Gültiken ME. (2001). Morphology Of The Spinal Cord In The Chicken, Duck And Pigeon. *Turkish Journal Of Veterinary & Animal Sciences*, 25(6), 913-920.

Jamil N, Zairi MNM, Nasim NAIM and Pa'ee F. (2018). Influences of environmental conditions to phytoconstituents in Clitoria ternatea (butterfly pea flower)—A review. *Journal of Science and Technology*, 10(2).

Jeffery ND. (1995). *Handbook of small animal spinal surgery*. WB Saunders.p236

Kahvecioğlu K, Özcan S, Çakır M ve Alapak H. (1995). Tavşanda Medulla Spinalis Ganglion Spinaller Üzerinde Makroanatmik Çalışmalar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 81-85.

Kalmankar NV, Venkatesan R, Balaram P and Sowdhamini R. (2020). Transcriptomic profiling of the medicinal plant Clitoria ternatea: identification of potential genes in cyclotide biosynthesis. *Scientific reports*, 10(1), 12658.

Kang SK, Yeo JE, Kang KS and Phinney DG. (2007). Cytoplasmic extracts from adipose tissue stromal cells alleviates secondary damage by modulating apoptosis and promotes functional recovery following spinal cord injury. *Brain pathology*, 17(3), 263-275.

Kaplan KM, Spivak JM and Bendo JA. (2005). Embryology of the spine and associated congenital abnormalities. *The Spine Journal*, 5(5), 564-576.

Kaptanoğlu E, Beskonaklı E, Solaroğlu I, Kilinc A ve Taskin, Y. (2003). Magnesium sulfate treatment in experimental spinal cord injury: emphasis on vascular changes and early clinical results. *Neurosurgical review*, 26, 283-287.

Kaptanoğlu E, Beskonaklı E, Solaroğlu I, Kilinc A ve Taskin Y. (2003). Magnesium sulfate treatment in experimental spinal cord injury: emphasis on vascular changes and early clinical results. *Neurosurgical review*, 26, 283-287.

Kavakli HS, Koca C ve Alici O. (2011). Antioxidant effects of curcumin in spinal cord injury in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 17(1), 14-8.

Kavanagh RJ and Kam PCA. (2001). Lazaroids: efficacy and mechanism of action of the 21-aminosteroids in neuroprotection. *British Journal of Anaesthesia*, 86(1), 110-119.

Kertmen H, Celikoglu E, Ozturk OC, Gürer B, Bozkurt H, Kanat MA ve ark. (2018). Comparative effects of methylprednisolone and tetracosactide (ACTH 1–24) on ischemia/reperfusion injury of the rabbit spinal cord. *Archives of Medical Science*, 14(6), 1459-1470.

Kılıç E, Yayla S ve Ermutlum CŞ. (2013). Paraplejili Bir Köpekte Spinal Kord Lezyonunun Belirlenmesinde Klinik, Radyolojik Ve Patolojik Bulguların Değerlendirilmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*.

Kim Y, Jo SH, Kim WH and Kweon OK. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory effects of intravenously injected adipose derived mesenchymal stem cells in dogs with acute spinal cord injury. *Stem cell research & therapy*, 6, 1-10.

Kong X and Gao J. (2017). Macrophage polarization: a key event in the secondary phase of acute spinal cord injury. *Journal of cellular and molecular medicine*, 21(5), 941-954.

Lehrer N. (1996). Treatment With Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH) in Patients With Traumatic Spinal Cord Injuries. *Journal of Neurologic Physical Therapy*, 20(1), 65.

Leonard AV, Thornton E and Vink R. (2015). The relative contribution of edema and hemorrhage to raised intrathecal pressure after traumatic spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*, 32(6), 397-402.

Lifshutz J and Colohan A. (2004). A brief history of therapy for traumatic spinal cord injury. *Neurosurgical focus*, 16(1), 1-8.

Lijon MB, Meghla NS, Jahedi E, Rahman MA and Hossain I. (2017). Phytochemistry and pharmacological activities of *Clitoria ternatea*. *International Journal of Natural and Social Sciences*, 4(1), 1-10.

Lima R, Monteiro A, Salgado AJ, Monteiro S and Silva NA. (2022). Pathophysiology and therapeutic approaches for spinal cord injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 13833.

Lou J, Lenke LG, Ludwig FJ and O'brien MF. (1998). Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal cord*, 36(10), 683-690.

Lukacova N, Kisucka A, Kiss Bimbova K, Bacova M, Ileninova M, Kuruc T. et al. (2021). Glial-neuronal interactions in pathogenesis and treatment of spinal cord injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13577.

- Matis GK and Birbilis TA.** (2009). Erythropoietin in spinal cord injury. *European Spine Journal*, 18, 314-323.
- Mazensky D, Flesarova S and Sulla I.** (2017). Arterial blood supply to the spinal cord in animal models of spinal cord injury. A review. *The Anatomical Record*, 300(12), 2091-2106.
- McMahill BG, Borjesson DL, Sieber-Blum M, Nolte JA and Sturges BK.** (2015). Stem cells in canine spinal cord injury—promise for regenerative therapy in a large animal model of human disease. *Stem cell reviews and reports*, 11, 180-193.
- Milne B and Jhamandas K.** (1984). Naloxone: New therapeutic roles. *Canadian Anaesthetists' Society Journal*, 31(3), 272-278.
- Monga V, Meena CL, Kaur N and Jain R.** (2008). Chemistry and biology of thyrotropin-releasing hormone (TRH) and its analogs. *Current medicinal chemistry*, 15(26), 2718-2733.
- Naderi S, Türe U and Pait TG.** (2004). History of spinal cord localization. *Neurosurgical focus*, 16(1), 1-6.
- Nagoshi N, Nakashima H and Fehlings MG.** (2015). Riluzole as a neuroprotective drug for spinal cord injury: from bench to bedside. *Molecules*, 20(5), 7775-7789.
- Oguis GK, Gilding EK, Jackson MA and Craik DJ.** (2019). Butterfly pea (*Clitoria ternatea*), a cyclotide-bearing plant with applications in agriculture and medicine. *Frontiers in plant science*, 10, 645.
- Olby N.** (1999). Current concepts in the management of acute spinal cord injury. *Journal of veterinary internal medicine*, 13(5), 399-407.
- Olby N.** (2010). The pathogenesis and treatment of acute spinal cord injuries in dogs. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 40(5), 791-807.
- Olby, N. (2010). The pathogenesis and treatment of acute spinal cord injuries in dogs. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 40(5), 791-807.
- Oyinbo CA.** (2011). Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 71(2), 281-99.
- Patel N and Kirmi O.** (2009, December). Anatomy and imaging of the normal meninges. In *Seminars in Ultrasound, CT and MRI* (Vol. 30, No. 6, pp. 559-564). WB Saunders.
- Paspala SA, Vishwakarma SK, Murthy TV, Rao TN and Khan AA.** (2012). Potential role of stem cells in severe spinal cord injury: current perspectives and clinical data. *Stem Cells and Cloning: Advances and Applications*, 15-27.
- Pitts LH, Ross AMY, Chase GA and Faden AI.** (1995). Treatment with thyrotropin-releasing hormone (TRH) in patients with traumatic spinal cord injuries. *Journal of neurotrauma*, 12(3), 235-243.

Ponnusamy S, Gnanaraj WE, Marimuthu J, Selvakumar V and Nelson J. (2010). The effect of leaves extracts of *Clitoria ternatea* Linn against the fish pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(9), 723-726.

Rhoney DH, Luer MS, Hughes M and Hatton J. (1996). New pharmacologic approaches to acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 16(3), 382-392.

Rosado IR, Lavor MSL, Alves EG, Fukushima FB, Oliveira KM, Silva CMO, et al. (2014). Effects of methylprednisolone, dantrolene, and their combination on experimental spinal cord injury. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(8), 4617.

Rossi A, Biancheri R, Cama A, Piatelli G, Ravegnani M and Tortori-Donati P. (2004). Imaging in spine and spinal cord malformations. *European journal of radiology*, 50(2), 177-200.

Rouanet C, Reges D, Rocha E, Gagliardi V and Silva GS. (2017). Traumatic spinal cord injury: current concepts and treatment update. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 75, 387-393.

Rowland JW, Hawryluk GW, Kwon B and Fehlings MG. (2008). Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon. *Neurosurgical focus*, 25(5), E2.

Schiller MD and Mobbs RJ. (2012). The historical evolution of the management of spinal cord injury. *Journal of Clinical Neuroscience*, 19(10), 1348-1353.

Sekhon LH and Fehlings MG. (2001). Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. *Spine*, 26(24S), S2-S12.

Sisson S. (1938). The Anatomy of the Domestic Animals. *The Anatomy of the Domestic Animals.*, (Edn 3).

Solaroglu I, Kaptanoglu E, Okutan O, Beskonakli E, Attar A ve Kilinc K. (2005). Magnesium sulfate treatment decreases caspase-3 activity after experimental spinal cord injury in rats. *Surgical neurology*, 64, S17-S21.

Sperl A, Heller RA, Biglari B, Haubruck P, Seelig J, Schomburg L. et al. (2019). The role of magnesium in the secondary phase after traumatic spinal cord injury. A prospective clinical observer study. *Antioxidants*, 8(11), 509.

Šulla I, Horňák S and Balik V. (2022). Hypothermia as a potential remedy for canine and feline acute spinal cord injury: a review. *Acta Veterinaria Brno*, 91(2), 189-199.

Šulla I, Horňák S, Ledecký V and Balik V. (2019). A review of novel trends in management of canine spinal cord injury. *Acta Veterinaria Brno*, 88(2), 207-217.

Süzer T, Coskun E, Islekel H ve Tahta K. (1999). Neuroprotective effect of magnesium on lipid peroxidation and axonal function after experimental spinal cord injury. *Spinal cord*, 37(7), 480-484.

Taşbaş M. (1978)Evcil Kanatlılardan Tavuk-Horoz (*Gallus Domesticus*) Ve Hindi'nin (*Meleagris Gallopavo*) Medulla Spinalis Ve Zarları (Meninges) Üzerinde Karşılaştırmalı Makro-Anatomik Ve Subgros Araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* cilt:25(04)

Tator CH. (1995). Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain pathology*, 5(4), 407-413.

Tator CH and Fehlings MG. (1991). Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *Journal of neurosurgery*, 75(1), 15-26.

Tehli Ö, Temiz NÇ, Özer Mİ, Pusat S, Kırık A, Daneyemez MK. ve ark. (2015). Spinal Kord Travma Modelinde Aminoguanidin İle N-Asetilsistein'in Ayrı Ayrı Ve Birlikte Nöroprotektif Etkilerinin İncelenmesi. *Gulhane Medical Journal*, 57(2).

Thompson DN. (2014). Spinal dysraphic anomalies; classification, presentation and management. *Paediatrics and Child Health*, 24(10), 431-438.

Toyran AA ve Çakmak G. (2021). Bir Aylık Ve Beş Aylık Erkek Ratlarda Medulla Spinalis' İn Torakal Segmenti Üzerine Yapılan Morfolojik Ve Stereolojik Bir Çalışma. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(1), 67-81.

Trivedi A, Olivas AD and Noble-Haeusslein LJ. (2006). Inflammation and spinal cord injury: infiltrating leukocytes as determinants of injury and repair processes. *Clinical neuroscience research*, 6(5), 283-292.

Üstün N, Aras M, Ozgur T, Bayraktar HS, Sefil F, Ozden R ve ark. (2014). Thymoquinone attenuates trauma induced spinal cord damage in an animal model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 20(5), 328-332.

Derneği Üzümcügil O, Benli İT ve Ofluoğlu E. (2016). *Omurganın sagittal plan deformiteleri*. 1.baskıTürk Omurga Yayınları.Ankara, 268 s.

Van Middendorp JJ, Sanchez GM and Burridge AL. (2010). The Edwin Smith Papyrus: A Clinical Reappraisal Of The Oldest Known Document On Spinal Injuries. *European Spine Journal*, 19, 1815-1823.

Venkatesh K, Ghosh SK, Mullick M, Manivasagam G and Sen D. (2019). Spinal cord injury: pathophysiology, treatment strategies, associated challenges, and future implications. *Cell and tissue research*, 377, 125-151.

Venkatesh K, Ghosh SK, Mullick M, Manivasagam G and Sen D. (2019). Spinal cord injury: pathophysiology, treatment strategies, associated challenges, and future implications. *Cell and tissue research*, 377, 125-151.

Wang Z, Zhou L, Zheng X and Liu W. (2018). Effects of dexamethasone on autophagy and apoptosis in acute spinal cord injury. *Neuroreport*, 29(13), 1084-1091.

Webb AA, Ngan S and Fowler D. (2010). Spinal cord injury II: Prognostic indicators, standards of care, and clinical trials. *The Canadian Veterinary Journal*, 51(6), 598.

Webb AA, Ngan S and Fowler JD. (2010). Spinal cord injury I: A synopsis of the basic science. *The Canadian Veterinary Journal*, 51(5), 485.

Williams AM, Manouchehri N, Erskine E, Tauh, K, So K, Shortt, K. et al. (2020). Cardio-centric hemodynamic management improves spinal cord oxygenation and mitigates hemorrhage in acute spinal cord injury. *Nature Communications*, 11(1), 5209.

Yamazaki K, Kawabori M, Seki T and Houkin K. (2020). Clinical trials of stem cell treatment for spinal cord injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 3994.

Yazar T ve Altun N. (2007). *Dejeneratif omurga hastalıkları*. 2.baskı. Türk Omurga Derneği Yayınları , Ankara, 956 s.

Yuan B, Pan S and Zhang WW. (2017). Effects of gangliosides on expressions of caspase-3 and NGF in rats with acute spinal cord injury. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 21(24).

Zhang N, Yin Y, Xu SJ, Wu YP and Chen WS. (2012). Inflammation & apoptosis in spinal cord injury. *The Indian journal of medical research*, 135(3), 287.

Zhang Y, Al Mamun A, Yuan Y, Lu Q, Xiong J, Yang S. et al. (2021). Acute spinal cord injury: Pathophysiology and pharmacological intervention. *Molecular medicinereports*, 23(6),1-18.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı :MELEK SARAÇ
Uyruğu :T.C
Doğum yeri ve tarihi :GÜMÜŞHANE-1995
Medeni hali :EVLİ
Adres :Yeni mahalle, Yalı caddesi, Yalı evleri, C blok, No:11
Çaycuma/ZONGULDAK
TLF :05541308299
E-mail :2014021004@bingol.edu.tr
Yabancı dil :İngilizce

EĞİTİM BİLGİLERİ

| Derece | Kurum/Alan | Yer | Yıl |
|---------------|--|-----------|-----------|
| Yüksek Lisans | Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Cerrahisi AD | BİNGÖL | 2020-2023 |
| LİSANS | Veteriner Fakültesi | BİNGÖL | 2013-2018 |
| LİSE | Şiran Fatih Sultan Mehmet Lisesi | GÜMÜŞHANE | 2013 |

ÜNİVERSİTE DIŞI DENEYİM

| Kurum /Birim | Şehir | Unvan | Yıl |
|-------------------------|-----------|-----------------|------|
| Doğuş Veteriner Kliniği | ZONGULDAK | Veteriner Hekim | 2023 |