

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK (TIP) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DENEYSEL SPİNAL KORD YARALANMASINDA
LEVETİRASETAM VE MANYETİK ALANIN TEDAVİ EDİCİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

MEHMET MELİH PINARBAŞI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Özlem BOZKURT GİRİT

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-17041 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Mehmet Melih PINARBAŞI tarafından hazırlanan “Deneysel Spinal Kord Yaralanmasında Antiepileptik Bir Ajan Olan Levetirasetam ve Manyetik Alanın Tedavi Edici Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05/02/2018

Üye (T.D.) : Yrd. Doç. Dr. Özlem BOZKURT GİRİT ADÜ TIP FAK.....

Üye : Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN ADÜ TIP FAK.....

Üye : Prof. Dr. Murat PEHLİVAN EÜ TIP FAK.

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezimin gerçekleşmesinde desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman değerli görüşleri ve bilgisi ile bana yol gösterici olan tez danışmanım Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem BOZKURT GİRİT'e, öneri ve destekleriyle yanımda olan değerli öğretim üyelerimiz Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN ve Sayın Prof. Dr. Mehmet BİLGİN'e, deneylerimin Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) mikrospektroskopi incelemeleri aşamasında ODTÜ Biyolojik Bilimler Moleküler Biyofizik Laboratuvarı imkanlarından yararlanmamı sağlayan Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Bilimler Bölümü emekli Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Feride SEVERCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın deney aşamalarının uygulanmasında yardımlarıyla yanımda olan Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Araş. Gör. Didem BAKAY İLHAN, Araş. Gör. Ergün Cem KÖKEN, Araş. Gör. Mahmut Alp KILIÇ, Araş. Gör. Mehran AKSEL ve Biyofizik Anabilim Dalı Doktora ve Yüksek Lisans öğrencisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yaşamımın her anında sevgi ve desteklerini hissettiğim aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sinir Hücresi Yapısı ve Bölümleri	3
2.1.2. Sinir Hücrelerinde Aksiyon Potansiyeli ve İletimi.....	4
2.2. Sinir Sisteminin Yapısı.....	8
2.2.1. Merkezi Sinir Sistemi	8
2.3. Deneysel Spinal Kord Travma Modelleri.....	13
2.4. Spinal kord Yaralanmasının Patofizyolojisi	15
2.4.1. Birincil Hasar.....	15
2.4.2. İkincil Hasar	16
2.5. Akut Spinal kord Yaralanmasında Farmakoterapi	18
2.5.1 Kortikosteroidler ve Levetirasetam	18
2.6. Manyetik Alan Tedavisi	21
2.6.1. Manyetik Alanın Sinir Yaralanmalarında Kullanımı	23
2.6.2. Manyetik Alanın Farklı Patolojik Durumlardaki Etkileri.....	24
2.7. Elektromanyetik Radyasyon ve Optik Spektroskopisi.....	25
2.7.1. Kızılötesi Spektroskopisi.....	27
2.7.2. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Kullanım Avantajları	29

2.7.3. Fourier Dönüşüm Kızılötesi Mikrospektroskopik Görüntüleme (FTIRMI) ve Kullanım Avantajları	31
3. GEREÇ ve YÖNTEM	34
3.1. Çalışma Grupları	34
3.1.2. Deneysel Spinal Kord Modeli Oluşturulması.....	35
3.1.3. Metilprednizolon Uygulanması	36
3.1.4. Levetirasetam ve Manyetik Alan Uygulaması	36
3.2. Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi.....	37
3.3. FTIR Mikrospektroskopik İncelemeler ve Veri Analizi.....	39
3.4. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR	43
4.1. Davranışsal Fonksiyonel Değişim.....	43
4.2. FTIR Mikrospektroskopik Görüntüleme İncelemeleri	45
4.2.1. Spinal Kord Doku FTIR Spektrumu ve Bant Tanımları.....	46
4.2.2. Spinal Kord Doku FTIR Spektral Haritalarının Analizi.....	51
5. TARTIŞMA.....	76
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	83
KAYNAKLAR	85
EKLER	101
A. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul İzni	101
B. FTIR Mikrospektroskopik Görüntüleme Veri Analizi Sonucu Elde Edilen Histogramlar	102
ÖZGEÇMİŞ.....	111

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
BBB	: Basso, Beattie, Bresnahan
FTIR	: Fourier Dönüşüm Kızılötesi
FTIRMI	: Fourier Dönüşüm Kızılötesi Mikrospektroskopik Görüntüleme
GABA	: Gamma-aminobütirik asit
IR	: Kızılötesi
L	: Laminektomi
LEV	: Levetirasetam
LEVMA	: Kombine Levetirasetam ve Manyetik Alan
MA	: Manyetik Alan
MP	: Metilprednizolon
NASCIS	: The National Acute Spinal Cord Injury Study
OG	: Oligodendrosit
PEMF	: Darbeli Manyetik Alan
PRF	: Darbeli Radyofrekans Alan
PCA	: Başlıca Bileşen Analizi
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SV2A	: Sinaptik Vezikül Protein
SCI	: Spinal Cord Injury
T	: Travma

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Bir nöronun yapısı.....	3
Şekil 2. Membranın hücre içinde ve hücre dışında bulunan iyonlar ve konsantrasyonları.....	5
Şekil 3. Sodyum potasyum pompası	5
Şekil 4. Aksiyon potansiyeli.....	6
Şekil 5. Membranda elektriksel iletinin ilerlemesi.....	7
Şekil 6. Miyelinli bir sinir lifinde elektiriksel uyarının sıçrayıcı iletimi.....	8
Şekil 7. Merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi	9
Şekil 8. Beyinin bölümleri	9
Şekil 9. Spinal kord ve omur yerleşimi	13
Şekil 10. Spinal kordun ikincil yaralanma patofizyolojisi	17
Şekil 11. Levettirasetam moleküler yapısı	21
Şekil 12. Bir elektromanyetik dalga ve bileşenleri.....	22
Şekil 13. Elektromanyetik spektrum	25
Şekil 14. Jablonski diagramı	26
Şekil 15. Triatomik moleküllerde (A) ve lineer olmayan triatomik moleküllerde (B) oluşan bazı moleküler titreşimler.....	28
Şekil 16. FTIR spektrofotometresinde yer alan temel bileşenler	29
Şekil 17. FTIR mikrospektroskopu çalışma prensibi	32
Şekil 18. Gerçekleştirilen veri analizin basamakları	40
Şekil 19. Sağ ve sol bacağa ait BBB skorlarının günlere göre değişimini gösteren grafik.....	43
Şekil 20. Laminektomi grubu spektral haritalarından çıkarılmış olan 4000-800 cm ⁻¹ frekans aralığındaki örnek spinal kord spektrumu	46
Şekil 21. Laminektomi grubuna ait bir spinal kord kesitinde FTIR mikroskobunun ışık mikroskobu fonksiyonu ile elde edilmiş örnek spinal kord kesit görüntüsü (A), aynı kesitin lipid/protein oranını gösteren (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu ile taranması sonucu elde edilmiş) spektral harita (B), (B)'deki spektral haritaya ait histogram (C), (B)'deki spektral haritadan ak ve gri madde bölgelerinden çıkarılmış örnek ak ve gri madde spektrumları (D), hem (A) hem (B) üzerinde işaretli bölgeden daha yüksek çözünürlüklü 6,25x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu ile toplanmış ve lipid/protein oranını gösteren spektral harita (E), ve (E)'deki spektral haritaya ait histogram (F)	49

- Şekil 22.** Laminektomi grubuna ait spinal kord kesitinden elde edilen bir toplam soğurma spektral haritası kullanılarak gerçekleştirilen yapısal farklılıkları çözmeye yönelik kümeleme analizi sonucu elde edilen farklı bölgeleri gösteren harita (A), bu haritadaki farklı bölgelerden çıkarılmış olan spektrumlar (B). Yeşil spektrum A’da tespit edilen yeşil bölgeden, kırmızı spektrum ise kırmızı bölgeden çıkarılmıştır.....50
- Şekil 23.** Spinal kord kesitlerinden elde edilen ak ve gri madde bölgelerine ait 4000-800 cm^{-1} frekans aralığındaki örnek FTIR spektrumları. Spektrumlar 1700-1600 cm^{-1} frekans aralığında yer alan amid I bandına göre normalize edilmiştir. Şekil üzerinde lipid kaynaklı bantlar kırmızı ok ile işaretlenmiştir.51
- Şekil 24.** Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipid/protein değerinin değişimlerini gösteren CH gerilim/amid I ve CH_2 bükülme/amid I alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 μm IR dedektör piksel boyutu).54
- Şekil 25.** Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki etil grup miktarını gösteren CH_2 antisimetrik gerilim/CH gerilim ve lipidlerdeki metil grup miktarını gösteren CH_3 antisimetrik gerilim/CH gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 μm IR dedektör piksel boyutu).55
- Şekil 26.** Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki doymamış lipid miktarını gösteren olefinik/CH gerilim ve doymamış-doymuş lipid oranını gösteren olefinik/ CH_2 antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 μm IR dedektör piksel boyutu).56
- Şekil 27.** Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki karbonil miktarını gösteren C=O ester/CH gerilim ve fosfat grubu içermeyen lipid içeriğini gösteren C=O ester/ PO_2 antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 μm IR dedektör piksel boyutu).57
- Şekil 28.** Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki ester grubu içeren lipid miktarını gösteren C=O ester/ CH_2 antisimetrik gerilim ve hidrokarbon zincir uzunluğunu gösteren CH_3 antisimetrik/ CH_2 antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 μm IR dedektör piksel boyutu).58
- Şekil 29.** Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki fosfat grubu içeren lipid miktarını gösteren PO_2 antisimetrik gerilim/CH gerilim ve fosfat grubu içeren lipid miktarını gösteren PO_2 antisimetrik gerilim/ CH_2 antisimetrik gerilim oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 μm IR dedektör piksel boyutu).59
- Şekil 30.** Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki protein ikincil yapı değişimlerini gösteren amid I/amid II ve lipid yıkım düzeyini gösteren C=O ester gerilim/amid II

alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).....	60
Şekil 31. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki nükleik asit protein oranını gösteren PO ₂ antisimetrik gerilim/amid II ve nükleik asit protein oranını gösteren RNA/amid II alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).	61
Şekil 32. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipid/protein değerinin değişimlerini gösteren CH gerilim/amid I ve CH ₂ bükülme/amid I alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).	64
Şekil 33. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki etil grup miktarını gösteren CH ₂ antisimetrik gerilim/CH gerilim ve lipidlerdeki metil grup miktarını gösteren CH ₃ antisimetrik gerilim/CH gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).	65
Şekil 34. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki doymamış lipid miktarını gösteren olefinik/CH gerilim ve doymamış-doymuş lipid oranını gösteren olefinik/CH ₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).	66
Şekil 35. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki karbonil miktarını gösteren C=O ester/CH gerilim ve fosfat içermeyen lipid içeriğini gösteren C=O ester/PO ₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).	67
Şekil 36. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki ester grubu içeren lipid miktarını gösteren C=O ester/CH ₂ antisimetrik gerilim ve hidrokarbon zincir uzunluğunu gösteren CH ₃ antisimetrik/CH ₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).	68
Şekil 37. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki fosfat içeren lipid miktarını gösteren PO ₂ antisimetrik gerilim/CH gerilim ve fosfat içeren lipid miktarını gösteren PO ₂ antisimetrik gerilim/CH ₂ antisimetrik gerilim oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).	69
Şekil 38. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki protein ikincil yapı değişimlerini gösteren amid I/amid II ve lipidlerdeki yıkım düzeyini gösteren C=O ester gerilim/amid II alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).	70

Şekil 39. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki nükleik asit protein oranını gösteren PO_2 antisimetrik gerilim/amid II ve nükleik asit protein oranını gösteren RNA/amid II alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 μm IR dedektör piksel boyutu).....71



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. T7-10 seviyesinde total laminektomi uygulanmış denek.....	35
Resim 2. Bilgisayar kontrollü yaralama cihazı	36



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Deneysel spinal kord travma modelleri	14
Tablo 2. BBB skalası ve fonksiyonel davranışsal değerlendirme kriterleri.....	38
Tablo 3. Spektral haritalarda gerçekleştirilen bant alanı hesaplamaları için kullanılan spektral aralıklar.	40
Tablo 4. Sağ ve sol bacadan alınan fonksiyonel değişim sonuçlarının günlere göre değişimi.	44
Tablo 5. Spinal kord dokusunun 4000-800 cm ⁻¹ bölgesindeki başlıca kızılötesi spektrumu soğurulma bantları ve bu bantların literatüre göre belirlenen bant tanımları	47
Tablo 6. Spektral haritalarda görüntülenen ve hesaplanan bant alan oranları	52
Tablo 7. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerinden 25 x 25 µm IR piksel boyutu ile toplanmış FTIR mikrospektroskopik haritalarında bazı bant alan oranlarındaki değişimler.	53
Tablo 8. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerinden 6,25 x 6,25 µm IR piksel boyutu ile toplanmış FTIR mikrospektroskopik haritalarında bazı bant alan oranlarındaki değişimler.	63

ÖZET

DENEYSEL SPİNAL KORD YARALANMASINDA LEVETİRASETAM VE MANYETİK ALANIN TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Pınarbaşı MM. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik (Tıp) Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2018.

Spinal kord yaralanması meydana gelen nörolojik defisit nedeniyle bireye bakmakla yükümlü ailelerin ve bireylerin yaşam kalitesini olumsuz olarak etkilemektedir. Tedavide pek çok yaklaşım önerilmiş olmasına rağmen klinikte sadece metilprednizolon kullanılmaktadır. Yakın zamanda antiepileptikler ve manyetik alanın nörorejeneratif özelliklere sahip olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmada deneysel spinal kord hasarında kombine manyetik alan ve yeni nesil bir antiepileptik olan levetirasetam tedavisinin etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yetişkin Wistar sıçanları laminektomi, travma, metilprednizolon, levetirasetam (LEV), manyetik alan (MA) ve kombine levetirasetam ve manyetik alan (LEVMA) tedavi grupları olmak üzere altı gruba ayrıldı. Spinal kord travması T10 düzeyinde oluşturularak metilprednizolon 30 mg/kg dozunda i.p. olarak, levetirasetam 100 mg/kg dozunda gavajla verildi. 50 Hz 1 mT düşük frekanslı manyetik alan selenoidde 30 dakika boyunca uygulandı. Sıçanların fonksiyonel davranışları BBB skorları kullanılarak değerlendirildi. Tedavilerin uygulandığı 21 gün sonunda çıkarılan spinal kordlardan 12 µm kalınlıkta kesitler soğutmalı mikrotom ile alınarak Fourier Transform Infrared (FTIR) görüntüleme yapıldı.

BBB skorları LEV, MA ve kombine LEVMA tedavilerinin sıçanların davranışsal işlevlerinde düzelmeye yol açtığını, ancak düzelmenin metilprednizolon tedavisi kadar etkin olmadığını göstermiştir. FTIR görüntüleme sonuçları, spinal kord yaralanmasının lipid yıkımında artıma, ester içeren lipidlerde bir azalmayla birlikte fosfat içeren lipid miktarında bir artışa neden olduğunu ortaya koymuştur. Metilprednizolon tedavisi ve kombine LEVMA tedavisi ise lipid içeriğindeki bu değişimi engellemiştir. Spinal kord yaralanması, daha kısa lipid açıl zincir içeriğine neden olurken, metilprednizolon ve kombine LEVMA tedavisi, laminektomi grubunda olduğu gibi daha uzun lipid asil zincir içeriğine neden olmuştur. Benzer şekilde spinal kord yaralanması, lipidlerde etil grubunun miktarında bir azalmaya neden olurken metilprednizolon ve kombine LEVMA tedavisi etil

grubu miktarında artışa neden olmuştur. Laminektomi grubuna kıyasla, tüm diğer gruplarda lipit/protein oranı yüksek olmakla birlikte en belirgin artışın LEV grubunda olduğu gözlenmiştir. Laminektomi harici gruplarda, özellikle tek başına uygulanan MA ve LEV tedavi gruplarında doymamış lipit içeriğinin azaldığı, fakat kombine LEVMA tedavisinin lipit peroksidasyonunun önleyerek doymamış lipit içeriğinde daha küçük bir azalmaya neden olduğu görülmüştür.

Çalışma sonuçları kombine LEVMA tedavisinin spinal kord travmasında lipit yapısındaki hasar kaynaklı değişiklikleri düzeltmede, oksidatif stresi engellemede, lipit kompozisyonunu düzenlemede yani ikincil hasarı önlemede etkili olabileceğini ve ileriki araştırmalarla umut vaat eden bir tedavi alternatifi olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Spinal kord travma, düşük frekanslı manyetik alan, metilprednizolon, levetirasetam, FTIR mikrospektroskopik görüntüleme

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE THERAPEUTIC EFFECTS LEVETIRACETAM AND MAGNETIC FIELD IN EXPERIMENTAL SPINAL CORD INJURY

Pınarbaşı MM. Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Biophysics (Medicine) Programme M.Sc. Thesis, Aydın, 2018.

Spinal cord injury (SCI) produces neurological deficits, and thus significantly affect the lifestyle of the subjects as well as their families. Although many approaches have been proposed for treatment, only methylprednisolone is used routinely in the clinics. Recently, antiepileptics and magnetic field have been proposed to possess neuroregenerative properties. This study aims to investigate the efficiency of combined magnetic field and a new generation antiepileptic levetiracetam treatment in experimental spinal cord injury.

Adult Wistar rats were divided into six groups, namely laminectomy, trauma, methylprednisolone, levetiracetam (LEV), magnetic field (MF), and combined levetiracetam and magnetic field (LEVMF) treatment groups. Spinal cord contusion injury was generated at T10 level, afterwards methylprednisolone was administered i.p. at a single 30 mg/kg dose and levetiracetam was administered by oral gavage at a 100 mg/kg dose. Low frequency 50 Hz 1 mT magnetic field was applied in a selenoid for 30 min/day. Functional behaviour of rats were assessed using BBB scores. At the end of 21 day treatment period, spinal cords were dissected. 12 µm thick spinal cord sections were obtained by a cryotome and placed onto BaF₂ windows for Fourier transform infrared (FTIR) imaging studies.

BBB scores revealed that levetiracetam, magnetic field and combined magnetic field and levetiracetam treatments led to an improvement in the behavioural functions of the rats, but not as prominent as methylprednisolone treatment. The results of FTIR analysis revealed that SCI led to an increase in the amount of lipid degradation with an increase in content of phosphate containing lipids with a decrease in ester containing lipids. Methylprednisolone and the combined LEVMF treatment restored this alterations in lipid composition. SCI resulted in an increase in the content of shorter lipid acyl chains, whereas methylprednisolone and the combined LEVMF treatment led to an increase in the content of longer lipid acyl chains as in that of laminectomy group. Similarly, SCI resulted in a decrease of the ethyl group amount in lipids and methylprednisolone and combine LEVMF

treatment led to an increase in ethyl group amount. Compared to the laminectomy group, the lipid to protein ratio increased in the remaining groups, where the most prominent increase was in LEV group. In all the groups except laminectomy, especially in MA and LEV treatment groups, there was a decrease in the content of unsaturated lipids, however the combined LEVMF treatment led to a slight decrease in unsaturated content preventing lipid peroxidation.

The results of this study implicated that the combined strategy of LEVMF treatment was efficient in prevention of the secondary injury by restoring the SCI-induced alterations in lipid structure and composition as well as preventing oxidative stress in spinal cords, and warrants further investigations.

Keywords: Spinal cord injury, methylprednisolone, levetiracetam, low frequency magnetic field, FTIR imaging

1. GİRİŞ

Spinal kord yaralanması sonuçları itibariyle hem bireysel hem de toplumsal açıdan çok önemli bir problemdir. Ayrıca, ekonomik ve kültürel boyutları ile de devlet politikalarını da etkileyen önemli bir faktördür. Spinal kord hasarları, toplum içinde yaşamına kendi kendine devam edebilen hafif güç kayıplarıyla yaşayan bireyler yanında tamamen bakıma muhtaç ve hatta solunumu olmayan bakım hastalarına neden olabilirler. Spinal kord travmaları; motorlu taşıt kazaları (%50), düşme ve iş kazaları (%30), şiddet suçları (%11), spor yaralanmaları ve torasik aorta cerrahileri sonrası görülebilmektedir. Yaralanmalarda erkek/kadın oranı 4/1 dir.

Yaralanma sonrasındaki ilk birkaç gün içerisinde, spinal kordda oluşan lezyonun patolojik görüntüsündeki dramatik değişiklikler, klinik ve deneysel gözlemlerin en önemli noktasını oluşturmaktadır. Bununla bağlantılı olarak, spinal kord yaralanmasının patofizyolojisinde oluşan hasarın primer ve ikincil mekanizmalarla olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Bunlar; birincil mekanik hasar ve bunun tarafından tetiklenerek oluşan ve birçok etkenin rol oynadığı ikincil hasarlanmalardır. Spinal kord travmasında nöropatolojik bulgular travmanın oluş şekli, süresi, şiddeti gibi birçok faktörden etkilenir. Travmadan sonra başlayan ikincil hasar süreci akut, subakut ve geç faz olarak sınıflanabilir. Travmadan haftalar sonra skar dokusu ve kavite oluşur, beyaz cevherde wallerian dejenerasyonun değişik evreleri gözlenir. Bu süreçler nedeniyle hafif spinal kord künt travmalarda erken dönemde defisitler görülmezken, geç dönemde patolojik sürecin ilerlemesiyle nörolojik defisitler görülebilir (Kakulas, 1984). Spinal kord hasarının akut safhasındaki tedavi çalışmalarının büyük çoğunluğu ikinci nörotoksik oluşumları engellemeyi ya da bu sürecin ilerlemesini durdurabilmeyi amaçlamaktadır. Medikal tedaviden kısmi fayda görülmüş olmasına rağmen literatürdeki son çalışmalarda dahi spinal kord travması sonrası nörolojik fonksiyonlarda tam iyileşme henüz sağlanamamıştır (Sencer ve ark, 2013). Bunun yanı sıra spinal kord yaralanmasında klinikte kullanılan tek ajan olan metilprednizolon tedavisinin etkinliği sınırlı düzeyde kalabilmekte veya hastalarda enfeksiyona yatkınlık ve yara iyilişmesiyle ilgili komplikasyonlar görülebilmektedir (Hulbert, 2000). Bu nedenle sözü edilen nörolojik fonksiyonların geri kazanımı üzerine uygulanacak yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda spinal kord travmasında antiepileptiklerin kullanımı önerilmiştir (Trojnar ve ark, 2002; Gensel ve ark, 2012). Yapısı pirasetama benzeyen tek

enantiomer olan levetirasetam, aktivasyon mekanizmasının henüz belirlenemediği antiepileptik ilaçlar sınıfında yer almaktadır (Kwan ve ark, 2001). Kapsamlı klinik öncesi araştırmalar levetirasetamın Na^+ , Ca^{+2} ve K^+ kanalları ya da GABA ve glutamat nörotransmitter sistemleri de dahil olmak üzere, geleneksel hedefler ile herhangi doğrudan etkileşiminin olmadığını göstermektedir (Noyer ve ark, 1995). Bilinen nörotransmisyonu ait mekanizmalardan farklı bir etki mekanizmasına sahip olduğu anlaşılmaktadır. SV2A adı verilen sinaptik vezikül protein, levetirasetamın etkisinde temel hedef olarak gözükmektedir (Lynch ve ark, 2004). Klinik kullanımda levetirasetamın sedatif etkileri dışında yan etki düzeyi diğer antiepileptiklere göre daha az olduğu belirlenmiştir. Son dönem çalışmalarda beyin travmasına yönelik etkileri incelenmiş olup bu çalışmada da spinal kord yaralanması üzerindeki tedavi etkinliği incelenmiştir.

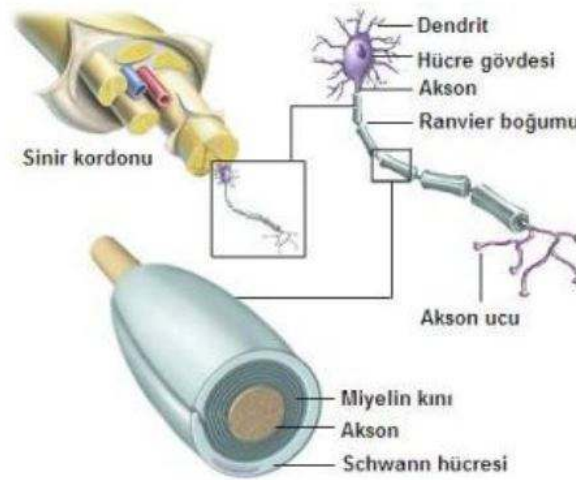
Deneysel ve klinik veriler düşük frekanslı manyetik alanın biyolojik sistemler üzerinde çok derin etkilere sahip olduğunu işaret etmektedir. Bu verilerden en önemlilerinden biri *in vitro* sistemlerde manyetik alanın kullanımının önerilmesine de neden olan manyetik alanın hücrelerin biyolojik aktivitelerinde, bölünme ve farklılaşmalarında değişimler oluşturduğunun gözlenmesidir. Manyetik alan uygulamasının yumuşak doku, kemik ve sinir iyileşmesi ve rejenerasyonu üzerinde olumlu etkileri literatürde yerini almıştır (Crowe ve ark, 2003). Laboratuvar ve klinik verilerine göre son yirmi yıldır manyetik alanın birçok hastalığın tedavisinde kullanıldığı görülmeye rağmen literatürde manyetik alanın spinal kord travması tedavisindeki etkinliği ile ilgili bir bulguya rastlanmamaktadır.

Bu çalışmada deneysel spinal kord yaralanması tedavisinde manyetik alan ve yeni nesil antiepileptik ajan olan levetirasetamın ayrı ayrı ve birlikte kullanımlarının etkinliğinin spinal kord doku bileşenlerinde oluşan içerik ve yapısal değişimlerin belirlenmesiyle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar medikal tedavide kabul görmüş olan tek ajan olan metilprednizolon (Manthley ve ark, 2005; Komur ve ark, 2014) ile karşılaştırılarak uygulamanın terapötik potansiyelinin tespitine olanak sağlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Hücresi Yapısı ve Bölümleri

Bir sinir lifi akson ucu, akson gövdesi, hücre gövdesi ve dentrit olmak üzere dört ana bölümden meydana gelir (Şekil 1). Hücre gövdesinde nükleus ve hücrenin ana yaşamsal işlevlerini yerine getiren mekanizma yer alır. Dentritler nöral iletişimin sağlanmasında görevlidirler. Bir nörondan diğerine geçen mesajlar mesaj yollayan hücrenin akson ucu ile mesajı alan hücrenin dentrit membranı ya da hücre gövdesi bölümü arasındaki birleşme yeri olan sinapslar aracılığıyla aktarımı sağlanır. Hücre gövdesinden hedef hücrelerine uzanan ve oraya çıktıyı taşıyan uzantılardır (Richard ve ark, 2011). Aksonun uzunlukları birkaç mikrondan bir metreye kadar farklılık gösterebilir. Aksonun ana bölgesi kollateral deneyim dallanmalara sahip olabilir. Her bir dalın sonuna, aksondan salgılanan sinirsel iletim maddesinin salınımından sorumlu olan akson terminalidir. Bu kimyasal haberciler, hücre dışı aralığı geçerek sonlanmanın karşısındaki hücreye difüze olur. Bu duruma alternatif olarak bazı nöronlar kimyasal haberci maddelerini varikozite olarak bilinen ve akson boyunca uzanan bir seri çıkıntılı alandan salgılanırlar. Sinir hücrelerinin kısımlarının herbiri, membrana bağlı çeşitli kanal ve pompaların dağılımının bölgesel oluşundan farklı görevleri yerine getirirler (Richard ve ark, 2011).



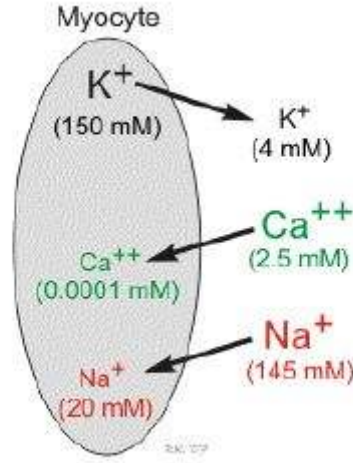
Şekil 1. Bir nöronun yapısı (Eric, 2014)

Miyelin oluşumunda miyelin kılıfın kalınlığı akson çapı tarafından belirlenir. Bundan dolayı miyelinizasyon, Schwann hücrelerinin aksonu sarıp akson ile meydana getirdiği fonksiyonel ilişki sonucunda gerçekleşir. Miyelin kılıf kalınlığını nöroregulin (Ngr1) adı verilen büyüme faktörü düzenler. Ngr1, aksonun nörolemmasından salınan bir transmembran proteini olup, Schwann hücrelerinin uygun kalınlıkta miyelin kılıf oluşturmada sinyal molekülü olabileceği düşünülmektedir (Ross ve Pawlina, 2006). Miyelin kılıf, akson boyunca iletilen elektrik sinyalin yalıtımı ile iletimi hızlandırır.

2.1.2. Sinir Hücrelerinde Aksiyon Potansiyeli ve İletimi

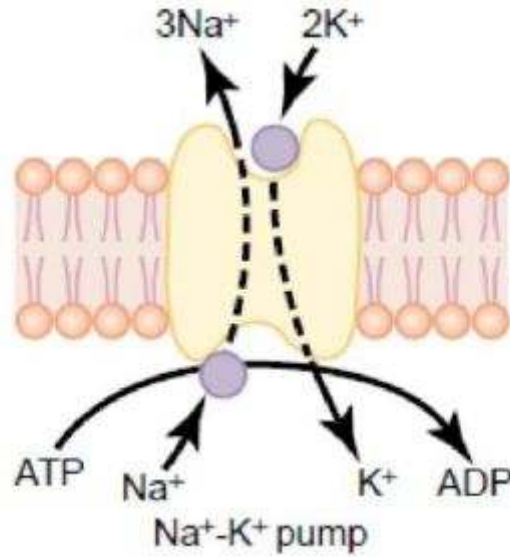
Membranın hücre içi ve hücre dışında yüklü iyonlar vardır ve membran bu iyonlara yarı geçirgendir. Elektriksel sinyalin iletimi de sinir hücre membranının yarı geçirgen zarı hücre içi ve hücre dışı sıvı arasında membran potansiyel farkının oluşması ile sağlanır (Ozturk, 2016). Hücre dışı sıvı alanının başlıca çözünür maddeleri sodyum ve klor iyonlarıdır. Hücre içi sıvı alanları ise yüksek konsantrasyonda potasyum iyonu ve fosfat bileşikler gibi iyonize olmuş difüzyona maruz kalamayan, özellikle negatif yüklü proteinleri ve fosfat bileşiklerini bulundurur. Elektriksel olaylar bu yüklü parçacıkların hücrenin plazma membranındaki dağılımının sonucu ortaya çıkmaktadır. Zıt işaretli ayrılmış elektrik yükler bir araya geldikleri durumda iş yapma potansiyeline sahip olurlar. Bu potansiyele elektrik potansiyel denir (Pehlivan, 2017).

Dinlenme durumundaki bütün hücreler, hücre içi dışına göre daha negatif olmak üzere potansiyel farkına sahiptirler. Bu potansiyele dinlenme membran potansiyeli denir. Bir sinir hücresinde membranın iki tarafı arasındaki potansiyel fark -70 mV tur (Pehlivan, 2017). Membrandan difüze olabilen iyonlardan konsantrasyon durumuna göre en çok olanlar sodyum, potasyum ve klor iyonlarıdır (John ve Hall, 2013). Dinlenme membran potansiyelinin oluşumunda en etkin rol çoğunlukla sodyum ve potasyumdur. Dinlenme durumunda hücrenin içerisinde potasyum, dışarısında ise sodyum ve klor iyon konsantrasyonları yüksektir (Şekil 2).



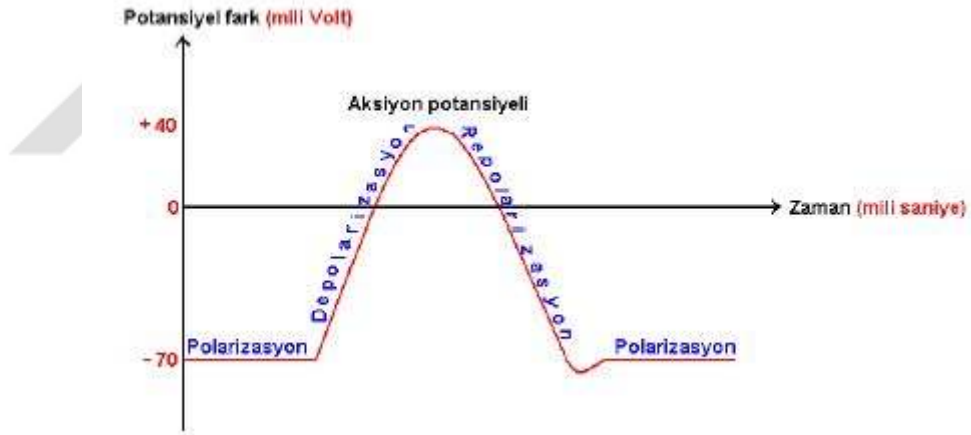
Şekil 2. Membranın hücre içinde ve hücre dışında bulunan iyonlar ve konsantrasyonları (Richard, 2011).

Ayrıca hücre içerisinde membranı geçemeyen büyük negatif yüklü moleküller de bulunmaktadır. Sodyum ve potasyum konsantrasyon farkı sodyumun hücre dışına ve potasyumu hücre içine transportunu sağlayan sodyum-potasyum pompası etkinliği ile gerçekleştirilir (Eric ve ark, 2010; John ve Hall, 2013) (Şekil 3).



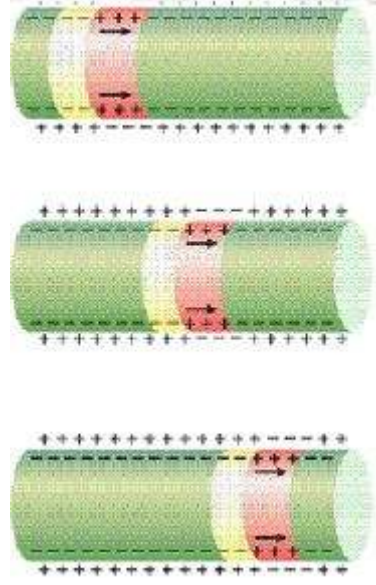
Şekil 3. Sodyum potasyum pompası (John ve Hall. 2013).

Bir uyarın geldiğinde membrandaki Na^+ kanallarının Na^+ geçirgenliği artar ve membran potansiyel değerinde pozitif değerlere kayma şeklinde görülen depolarizasyon durumu oluşur. Oluşan depolarizasyon yerel bir değişimdir ve çok uzak mesafelere iletimi olmayabilir. Eğer potansiyeldeki bu değişim eşik değeri aştığı zaman aksiyon potansiyeli olarak isimlendirilen ve membran potansiyeli değerini +30 mV'a yükselten hızlı depolarizasyon başlar. Bu depolarizasyon hücreye Na^+ girişi ile olur. Böylelikle aksiyon potansiyeli oluşur. Aksiyon potansiyeli bir hücrenin elektriksel membran potansiyelinin ani olarak yükselmesi ve azalmasıdır (John ve Hall, 2013). Bir eşik değeri aşıldığında ya hep ya hiç ilkesi ile oluşan bir membran potansiyel değişimi olarak da adlandırılır (Şekil 4). Membran potansiyeli +30 mV civarına geldiğinde Na^+ kanalları kapanır ve K^+ kanalları açık hale gelir. Bunun sonucunda hücreden dışarıya K^+ iyonlarının çıkışı ile birlikte repolarizasyon safhasına geçilir ve membran potansiyeli tekrar negatif değerlere doğru kayar (Pehlivan, 2017; John ve Hall, 2013).



Şekil 4. Aksiyon potansiyeli (Pehlivan, 2017)

Oluşan bu potansiyel değişimi sinir lifi boyunca komşu bölgelere yayılım gösterir. Miyelin kılıf olmayan hücrelerde komşu bölgenin iyon dağılımının değişimi ile membran potansiyelinin eşik değere getirilmesi gerçekleşir (Pehlivan, 2017; John ve Hall, 2013) (Şekil 5).

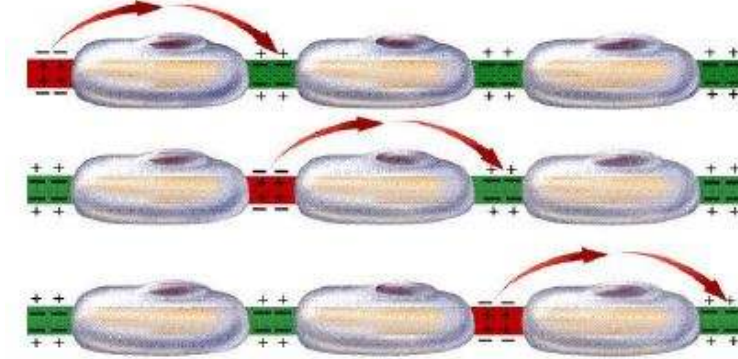


Şekil 5. Membranda elektriksel iletinin ilerlemesi (John ve Hall, 2013)

Miyelin; oligodendrositlerin (OG) plazma membranlarının özelleşmiş uzantıları tarafından oluşturulan bir yapı olup yüksek lipid/protein oranı ile karakterize olmuştur, intraselüler membranlar ve plazma membranlarına göre daha az sayıda protein ile zenginleştirilmiş bir yapıdır (Benjamins, 2003). Miyelin temel olarak; merkezi sinir sistemindeki ak madde ve geniş motor aksonlar içeren periferik sinirlerde bulunan, lipid ve proteinden oluşan bir membrandır. Yapısını %70 lipid, %30 protein oluşturmaktadır. Miyelin kılıfını oluşturan lipidlerin bileşiminde kolesterol %25, galaktolipit %29, ve fosfolipitler %46 oranında bulunmaktadır. Galaktoserebrozid miyelindeki başlıca galaktolipittir (Lefebvre ve Vartanian, 2002). Miyelin kılıfı iç içe geçmiş konsantrik tabakalar şeklindedir. Aksonun miyelinize segmentleri, Ranvier boğumlarının bulunduğu, düzenli bir şekilde yerleşmiş miyelin içermeyen alanlar ile birbirinden ayrılmaktadır. Ranvier boğumlarında bulunan sodyum kanalları, aksiyon potansiyelinin iletiminde görev alırlar (Benjamins, 2003; Lefebvre ve Vartanian, 2002).

Miyelinsiz sinir liflerinde elektriksel potansiyelin ilerlemesi zar boyunca kesintisiz iletilirken, miyelinli sinir liflerinde ise depolarizasyon yalnızca hücre içi ve hücre dışının bulunduğu Ranvier boğumlarında oluşmakta ve akım, bir boğumdan diğerine sıçrayarak ilerlemektedir. Bu iletime sıçrayıcı iletim denir. Bu durumun temel nedeni ise potansiyel değişimi için gerekli olan iyon kanallarının sadece Ranvier boğumlarında bulunmalarıdır. Miyelin kılıfın neden olduğu yalıtım sayesinde oluşan potansiyel hücre içerisinden hızlıca bir sonraki Ranvier boğumuna iletilir. Bu yüzden miyelinli liflerdeki bu sıçrayıcı elektriksel

iletim miyelinsiz liflerdeki elektriksel iletimden çok daha hızlı gerçekleşir (Ertaş, 2000; John ve Hall, 2013) (Şekil 6).



Şekil 6. Miyelinli bir sinir lifinde elektriksel uyarının sıçrayıcı iletimi (Eric, 2010)

2.2. Sinir Sisteminin Yapısı

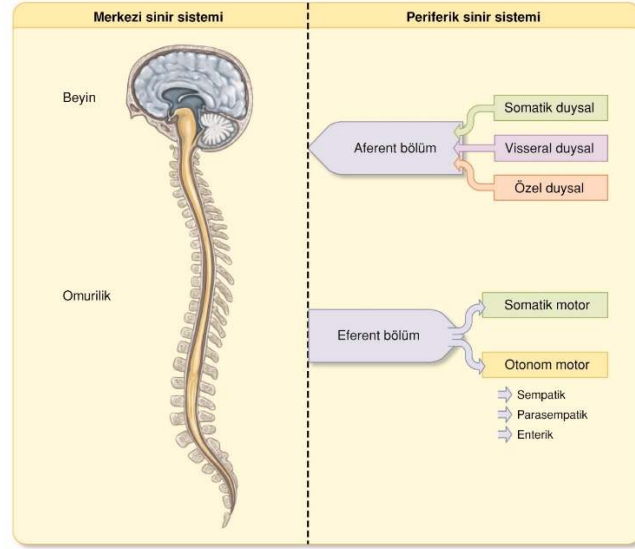
Sinir sistemi, canlıların iç ve dış çevresini tanımlama ve algılamasını sağlayan, çevresinden bilgi edinen ve bu bilgiyi işleyen, aksonlar ve hücre ağları yolu ile sinyallerin vücudun farklı bölümlerine iletimini sağlayan, bu sinyal iletimi sonucu organ ve kasların aktivitelerini düzenleyen organ sistemidir. Bu sistem iki ana bölümden meydana gelir. Merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi.

Merkezi sinir sistemi, beyin ve spinal korddan oluşurken, periferik sinir sistemi ise merkezi sinir sistemi ile vücudun diğer kısımları arasında bağlantı kuran sinir liflerinden meydana gelmiştir. Periferik sinir sistemi, motor nöronları, duyu nöronları, dolaylı istemli hareket, otonom sinir sistemi, somatik sinir sistemi, sempatik ve parasempatik sinir sistemi, düzenli istemsiz işlevler ve enterik sinir sisteminden oluşur (Ozturk, 2016) (Şekil 7).

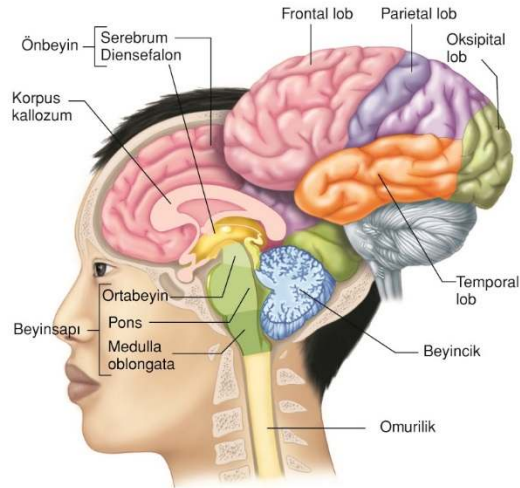
2.2.1. Merkezi Sinir Sistemi

Gelişim sırasında merkezi sinir sistemi uzun bir tüpten oluşur. Beyini oluşturacak olan tüpün ön kısmı, devam eden oluşumu sırasında, dört farklı bölgeye kıvrımlanır. Bu bölgeler beynin dört alt birimini meydana getirir: serebrum, diensefalon, beyin sapı ve serebellum.

Serebrum ve diensefalon ön beyini oluştururken, beyin sapı orta beyin, pons ve medulla oblongatadan oluşur. Beyin içi sıvı ile dolu birbirine bağlı dört adet boşluğu (serebral ventrikül) da içerir (Şekil 8).



Şekil 7. Merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi (Vander, 2014)



Şekil 8. Beyinin bölümleri (Vander, 2014)

2.2.1.1. Ön Beyin

Ön beynin en büyük kısmını meydana getiren serebrum, sağ ve sol serebral hemisferler ile onların altında yer alan diğer yapıları içerir. Ön beynin merkezi kısmını diensefalon oluşturur. Serebral hemisferle ona gri bir görünüm veren hücre gövdelerinden oluşan dış kabuk ve gri madde adı verilen serebral korteks ile miyelinli lif yollarından oluşan içteki beyaz madde tabakasından meydana gelmiştir. Lif yolları serebruma bilgi getiren veya serebrumdan bilgi götüren ve hemisferler içindeki farklı alanları birbirine bağlayan pek çok sinir lifinden oluşmuştur (Eric ve ark, 2010).

Her bir serebral hemisferin korteksi dört loba bölünür: Frontal, paryetal, oksipital ve temporal olmak üzere. Sinir sisteminin en karmaşık entegrasyon alanı beyin korteksidir. Serebral kortekste basit aferent bilgi toplanır ve anlamlı algısal görüntüler meydana gelmek üzere işlenir. İskelet kaslarının amaca yönelik hareketlerini idare eden sistemler kontrol edilir. Kortekse gelen sinir lifleri başta talamus olmak üzere diensefalondan ve ayrıca korteksin diğer bölgeleri ve beyin sapı alanlarından kaynak edinir (Eric ve ark, 2010). Girdi liflerinin bir kısmı çevrede olan spesifik olaylarla ilgili bilgiyi taşıırken diğerleri kortikal uyarılabilirlik düzeyini kontrol ederek uyanıklık durumunu belirler ve dikkati özel bir uyarana yönlendirir (Ozturk, 2016).

Subkortikal nükleuslar, serebral hemisferlerin içinde yer alan rastgele yayılım gösteren gri madde gruplarıdır. Bazal çekirdekler postür ve hareket kontrolünün sağlanmasında ayrıca karmaşık davranışlarda önemli görevler üstlenirler. Üçüncü ventrikül ile iki dar bölgeye ayrılan diensefalon, önbeynin ikinci bileşenidir. Talamus ve hipotalamus olmak üzere iki bölümü içerir. Talamus, sinaptik durak istasyonu gibi işlev gören birkaç büyük nükleus kümesidir ve kortekse gelen birçok girdinin önemli bir etkileşim ve işleme merkezidir. Burası genel uyanıklık ve odaklanmış dikkat içinde anahtar bir rol oynar (Eric ve ark, 2010).

Hipotalamus, talamus altında yer alır ve beynin alt yüzeyi üzerindedir. Nöral ve endokrin eşgüdümü sağlayan esas merkezi oluşturan farklı hücre grup ve yollarını içerir. Hipotalamus iç çevrenin homeostatik düzenlemeyi sağlayan en önemli ve tek kontrol alanıdır.

Ön beyin alanlarından bazıları hem gri hem de beyaz madde içermektedir ve bunlara limbik sistem adı verilir. İşlevsel bir sistem olarak sınıflandırılırlar. Bu birbirleri ile bağlantılı beyin grubu, frontal lob korteksi, temporal lob, talamus ve hipotalamus ile bunları bağlayan lif ağlarından meydana gelir. Limbik sistemin içindeki yapılar, öğrenme, duygusal deneyim ve davranış ve bir seri iç organ sistemleri ve endokrinolojik sistemler ile ilişkilidir.

Hipotalamus limbik sistem ürünlerini davranışsal ve endokrin yanıtlar oluşturmak üzere koordine eder (Ozturk, 2016).

2.2.1.2. Serebellum

Serebral korteks adı verilen hücre tabakası ve birkaç derin hücre topluluğundan meydana gelmiş olan bu yapı duruş ve dengenin kontrolü ile hareketin eşzamanlı ve koordinasyon içinde yapılabilmesi için önemli bir merkezdir (Eric ve ark, 2010). Bunları yapabilmek için serebellum kas ve eklemlerden, deriden, gözlerden ve kulaklardan, iç organlardan ve beyin hareketinin kontrolü ile ilgili parçalardan bilgi alır.

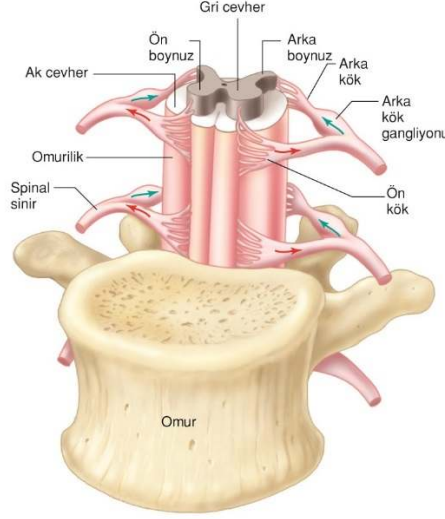
2.2.1.3. Beyin Sapı

Sinyalleri ön beyin, serebellum ve spinal kord arasında ileten bütün sinir lifleri beyin sapından geçerler. Retiküler formasyon beyin yaşam için önemli kısımlardan birisidir ve beyin sapının çekirdek bölgesi boyunca uzanan ve akson demetleri ile ilişkili seyrek yerleşimli nöron somalarından oluşan bir yapıdır. Merkezi sinir sisteminin tüm bölgelerinden bilgi alır, entegre eder ve nöral bilginin çoğunu işler. Retiküler formasyon motor işlevlerle, kardiyovasküler ve solunumsal kontrol ile ve uyku-uyanıklığı, dikkati kontrol eden mekanizmalar ile ilgilidir (Ozturk, 2016). Yutma ve kusma merkezini içerisinde barındıran retiküler formasyon ayrıca göz hareketlerinin ve vücudun uzay içerisindeki oryantasyonunun sağlanmasında önemli yer tutan nükleuslara da sahiptir (Eric ve ark, 2010). Hayati fonksiyonlarda kilit rol oynar.

2.2.1.4. Spinal Kord

Vertebral kanal içinde bulunan spinal kord, kanalın üçte ikisini kaplar. Foramen magnumdan başlar ve erkeklerde birinci ve ikinci lomber vertebra arasına, kadınlarda ikinci lomber vertebra ortasına kadar devam eder. Spinal kord ak ve gri olmak üzere renk ve yapısal farklar açısından ikiye ayrılır. Gri maddenin transversal kesitlerindeki ön çıkıntılarına ön

boynuz, arka çıkıntılarına ise arka boynuz denir. Torakal ve lomber spinal kord parçalarında ön boynuzların tabanından yanlara doğru uzanan yan boynuz adı verilen üçüncü bir çıkıntı daha vardır (Şekil 9). Gri maddenin ortasındaki kanala santral kanal adı verilir. Spinal kord boyunca uzanan bu gri madde çıkıntıları ön kolon, arka kolon ve yan kolon isimli sütunları oluşturur (Çimen, 1995; Widmaier ve ark, 2004). Ön boynuzda alfa ve gamma motor nöronlar gruplar halinde toplanarak iskelet kaslarına giden somatik afferent liflerin çekirdeklerini meydana getirirler. Arka boynuzdaki alıcı hücreler kümeleşerek sinirsel uyarıları spinal kordun diğer segmentlerine ya da beynin bölümlerine ileten çekirdekleri oluştururlar. Yan boynuz ise torakal ve lomber bölgedeki sempatik ve parasempatik otonom çekirdeklerden meydana gelmektedir (Çimen, 1995; Drake ve ark, 2007). Ak madde dışta ve gri madde çevresindeki miyelinli sinir lifleri ve glial hücrelerden meydana gelmiştir. Gri madde boynuzları ile funikulus anterior, funikulus posterior ve funikulus lateralis olmak üzere üç esas demete ayrılır. Bu demetler vücudun farklı bölgelerinden gelen uyarıları spinal kordun bölümlerine ve beyne, beyinden gelen sinyalleri spinal kord ve diğer vücut bölgelerine iletilmesinde görev alan inen ve çıkan yolları oluştururlar (Çimen, 1995; Willis ve ark, 2000). Spinal korddaki nöronlar, nöron ana gövdesi olan soma, spinal kordı terk ederek periferik sinire uzanan akson ve somadan çevreye uzanan dendritler olmak üzere başlıca üç bölümden oluşmuştur (Guyton ve Hall, 2015; Widmaier ve ark, 2004). Akson vizkositesi yüksek aksoplazmayla doludur ve aksonu çevreleyen miyelin kılıf akson uzunluğu boyunca her 1-3 mm'de bir ranvier boğumu ile kesilmiştir. Mekanik veya kimyasal uyarı ile sinir uçlarında ortaya aksiyon potansiyeli akson boyunca yayılım gösterir. Miyelin kılıflar sayesinde oluşan yalıtkanlık, akson membran kapasitansını 50 kat düşürür böylece çok küçük miktarlardaki iyon transferleriyle depolarizasyon oluşur. Aksiyon potansiyeli sadece ranvier boğumlarında oluşur ve boğumdan boğuma iletilir. Buna sıçrayıcı ileti denir. Sinir lifi ekseni boyunca sıçrayıcı ileti sayesinde, miyelinli sinirlerde ileti 5 ila 50 kat hızlı olur (Guyton ve Hall, 2015; Widmaier ve ark, 2004).



Şekil 9. Spinal kord ve omur yerleşimi (Vander, 2014)

2.3. Deneysel Spinal Kord Travma Modelleri

Akut spinal kord travmasında tedavi edici yeni yaklaşımların geliştirilebilmesi için insanda ortaya çıkan travmaya benzer olan uygulaması kolay ve standardize edilebilir hayvan travma modellerine ihtiyaç vardır. Oluşturulan hayvan spinal kord travma modeli, insan spinal kord travmasının biyomekanik özelliklerine benzer olmalı, travma sonrası spinal kordda benzer morfolojik ve patolojik özellikleri gösterebilmeli ve deneysel tedavi protokolleri sonrasında gelişecek fonksiyonel iyileşme insanlarda görülebilecek iyileşmeye benzer özellikler gösterebilmelidir. İnsanlarda travmatik spinal kord travmalarının çok büyük bir kısmını, omurganın ya da intervertebral diskin travmaya bağlı olarak dislokasyon fraktürü ya da patlama kırığı oluşturur. Buna bağlı olarak spinal kord üzerine akut kompresyon veya lacerasyon oluşabilmektedir (Bunge ve ark, 1993). Dolayısı ile deneysel spinal kord travma modellerini oluşturmak daha çok kompresyon tipi esas alınarak çeşitli travma modelleri geliştirilmeye çalışılmıştır (Anderson ve Stokes, 1992). Spinal kord yaralanmaları ile ilgili ilk çalışma 1890 ve 1897 yıllarında Lundberg tarafından yapılmış; Allen ve ark. (1911) tarafından standart ilk çalışma modeli gerçekleştirilmiştir. Ağırlık düşürme modeli olarak tanımlanan bu modelde, dura üzerine dik açı ile belli bir yükseklikten belirli bir ağırlık tüp içinden düşürülmüş, böylelikle travma oluşturulmuştur. Bu modelin en büyük dezavantajı, insanlarda anterior kord kompresyonu sık görülürken, bu modelde posterior kord

kompresyonu oluşturmasıdır. Ağırlık dūřürme modelinin farklı sonuçlara yol açtığı da bildirilmiştir. alışmalar arttıkça çeşitli araştırmacılar tarafından geliştirilen modellerin büyük kısmı gerçekte Allen'in oluşturduğu modelin modifikasyonlarıdır (Freeman ve Wright, 1953; Kajihara ve ark, 1973; Koozekanani ve ark, 1976). Günüme kadar epidural aralığa parafin enjeksiyonu, basınç ayarlı klemp ya da parmak ile kord kompresyonu, bone wax (balmumu) kullanımı, forseps ile kordun travmaya uğratılması, balon kompresyon modeli gibi çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Ayer, 1919; McVeigh, 1923; Thompson, 1923; Craig, 1932; Tarlov ve ark, 1953). Aşağıdaki Tablo 1'de akut spinal travma modelleri yer almaktadır. 1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geliştirilen klip kompresyon modelinde ise spinal kord çeşitli zaman aralıklarında şiddeti ayarlanabilen anevrizma klipleri ile klibe edilmekte ve bu sayede değişen şiddet ve zamanla travma oluşturulabilmektedir. Bu modelde klip kapanma gücü ve kompresyon süresi farklı ayarlanarak istenen şiddette yaralanma oluşturulabilmektedir (Xarchas ve Bourandras, 2003; Kwon ve ark, 2002). Bu modelin avantajı spinal kordun tamamının travmaya maruz bırakılarak, aynı zamanda iskemiye yol açmasıdır ki bu da insanlarda meydana gelen travma sonrası spinal kord yaralanmasına benzer bir model olmaktadır (Xarchas ve Bourandras, 2003).

Tablo 1. Deneyssel spinal kord travma modelleri

Travmatik yaralanma

1. Akut kinetik kompresyon: kaf, klip, balon, impaktör
2. Akut statik kompresyon: ağırlık uygulama
3. Çarpma veya aėırlık dūřürme
4. Akselerasyon-deselerasyon
5. Distraksiyon
6. Transsekiyon

Non-travmatik yaralanma

1. İskemi
2. Tümör kompresyon
3. Kimyasal ve fotokimyasal
4. Laser indüksiyon

2.4. Spinal kord Yaralanmasının Patofizyolojisi

Spinal kord travması, ortaya çıkardığı büyük orandaki iş gücü kaybı ve ekonomik sorunların sonucunda ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Yapılan deneysel çalışmalar ile spinal kord travmasının fizyopatolojisi anlaşılmaya çalışılmakta, tedavi yolları aranmaktadır. İlk kez Allen tarafından ortaya atılan spinal kord travmasının iki basamaklı teorisi ışığında laboratuvar çalışmaları devam etmektedir. Birincil hasarı takiben saatler ve günler içerisinde gelişen, bir dizi fizyopatolojik sürece bağlı ortaya çıkan spinal kord yaralanmasına da ikincil hasarlanma denir (Benzel ve Ferrara, 2002; Emr ve ark, 2005). Spinal kord yaralanmasında, birincil hasar, travma sırasındaki mekanik kuvvetler neticesinde gelişmekte ve tıbben tedavisi mümkün olmamaktadır. Bu koruyucu sağlık hizmetlerinin konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Spinal kord dekompresyonunu veya stabilizasyonunu gibi cerrahi tedavilerin ve medikal tedavilerin uygulandığı ikincil hasar ise birincil hasarın sebep olduğu, oluşabilecek fonksiyonel kaybı ağırlaştıran, bir takım fizyopatolojik mekanizmalara bağlı olarak ortaya çıkar.

2.4.1. Birincil Hasar

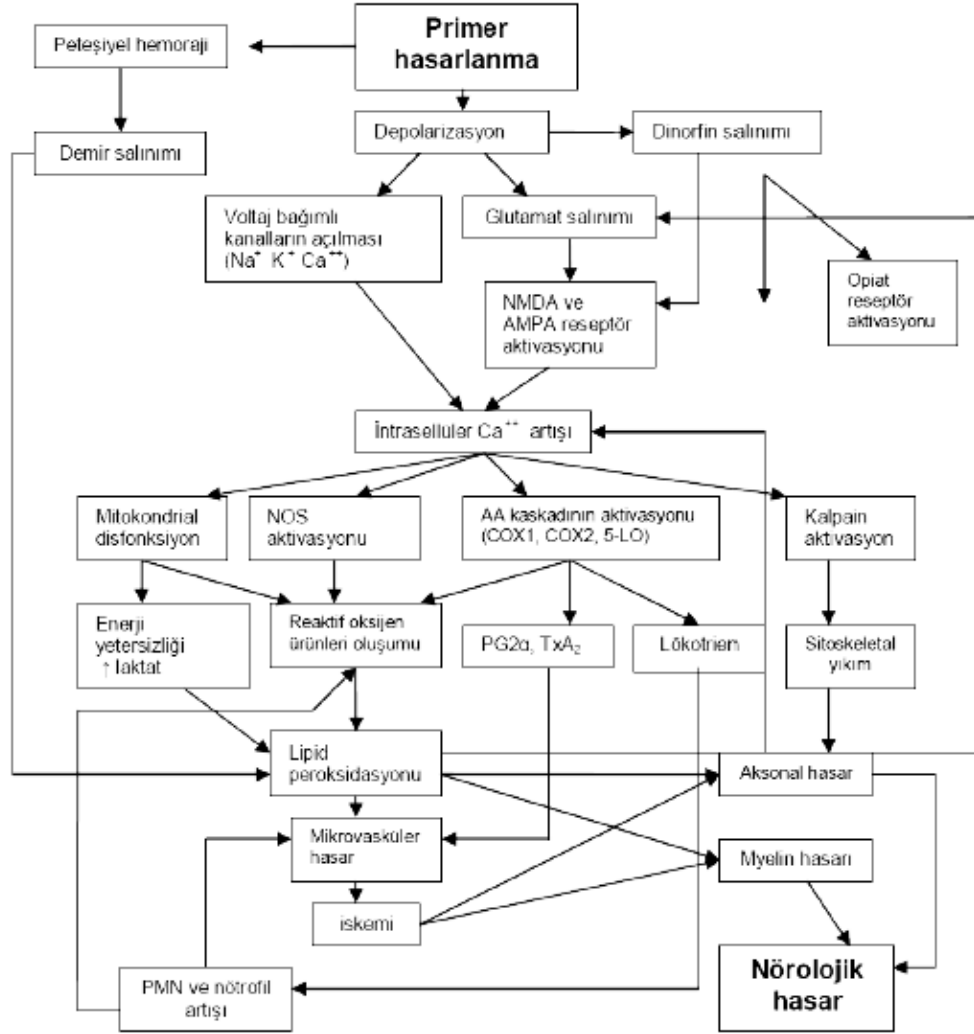
Spinal kord travmalarında birincil hasar, travma anında maruz kalan dokuların farklı mekanizmalarla zedelenmesini takiben nekroz ve fonksiyon kaybı ile sonuçlanan, ikincil hasarlanmanın başlamasına neden olan hasar olarak tanımlanabilir. Çarpma, kompresyon, distraksiyon, laserasyon gibi mekanizmalar nedeniyle travmanın vertebral kolona veya spinal korda uyguladığı kompresyon gücüne bağlı gelişim gösterir (Kaptanoğlu, 2005). Meydana gelen yaralanma birincil hasarın şiddeti ile orantılı olabilirken kırılan kemik fragmanın derecesi ile ilişkili olmayabilir (Tator, 1991; Amar ve Levy, 1999). Spinal kord travmasının en sık nedeni taşıt kazaları olurken (%45.4), yüksekte düşmeler (%16.8), spor yaralanmaları (%16.3) ve şiddet sonrası gelişen yaralanmalarda sebepler arasındadır (Kaptanoğlu ve Tator, 2002). Primer yaralanma derecesi, yaralanmaya sebep olan gücün genliğine, etki süresine ve spinal kord tarafından absorpsiyona uğratılan enerji oranına göre değişim gösterir (Blight ve Zimper, 2001). Spinal kordun uzun süre basıya maruz kalması, nörolojik hasarın artmasına ve prognozunun kötüleşmesine sebep olur. Bu durumda acil dekompresif cerrahi, nörolojik defisitini engellemesi adına büyük önem taşımaktadır.

Birincil hasarlanmanın günümüzde medikal tedavisi mümkün değilken travmaya maruz kalınabilecek durumların güvenlik önlemleri dahilinde engellenmesi koruyucu sağlık hizmetleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Hasta taşıma sırasında vertebra stabilizasyonun sağlanması ve kardiyopulmoner stabilizasyonun sağlanması yolu ile spinal kord kanlanmasının devam ettirilmeye çalışılması, ikincil hasarın gelişmesini engellemede veya en azından ikincil hasarlanmanın gelişmesinin ve etki oranının azaltılması önem arz etmektedir.

2.4.2. İkincil Hasar

Spinal kord yaralanması sonucunda, mekanik faktörler ile meydana gelen birincil hasarın sonucunda gelişen, ilerleyici nörolojik defisit nedeni olan, önlenebilir olması nedeniyle deneysel çalışmaların sıklıkla gerçekleştirildiği hasarlanmaya ikincil hasarlanma denir. Birincil hasar, daha sonra harabiyetin büyümesine neden olacak ikincil mekanizmaların meydana gelmesinde öncül işlev görür (Dumont ve ark, 2001). Spinal kordun iki basamaklı yaralanma teorisi, 1900 yıllarda Allen tarafından ortaya atılmasından sonra, yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda, ikincil hasarlanmanın önlenmesi üzerinde çalışılmaktadır. Birincil hasarlanmanın koruyucu önlemler ile önüne geçilmesine çalışılmakla beraber, tedavi edilebilmesi mümkün değildir. İkincil hasarlanmanın önlenebilir ve tedavi edilebilir olması çalışmaların bu noktada yoğunlaşmasına neden olmaktadır. İkincil hasar nedenlerinin tespiti ve tedavi planının yapılması deneysel çalışmaların odağı haline gelmiştir (Benzel ve Ferrara, 2002; Emr ve ark, 2005; Kaptanoğlu, 2005; Park ve ark, 1997). İkincil hasarlanma, spinal kordda hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, akson ve nöron nekrozu gibi zincirleme ve birbirini etkileyen bir fizyopatolojik süreçtir. Bu fizyopatolojik süreç; nörojenik şok, hemoraji ve iskemi-reperfüzyonu içeren damar problemleri, eksitotoksitite, kalsiyumla ilişkili ikincil hasar, sıvı elektrolit dengesizliği, immünolojik hasar, apoptoz ve mitokondrial disfonksiyonu içermektedir (Hall, 2004).

İkincil yaralanmada birçok mekanizma söz konusudur (Şekil 10). Spinal kord yaralanmasında erken dönemde ortaya çıkan, diğer mekanizmaların tetiklenmesine de neden olan hücre membran geçirgenliğinin artması ve iyon pompalarının bozulmasıdır. Hücrenin temel fonksiyonlarını yerine getirmede anahtar rol oynayan iyon dengesi, hücreyi apoptozise götürecek şekilde bozulur.



Şekil 10. Spinal kordun ikincil yaralanma patofizyolojisi (Hall, 2004)

Spinal kord yaralanmalarında ikincil hasar mekanizmaları birbiriyle ilişkili ve birbirini tetikleyen dört ana teoride toplanmıştır.

Bu teoriler:

- (i) Serbest Oksijen Radikalleri Teorisi: Hasarlı dokuda biriken radikallerin sayısının artması sonucu onların ürünleri doku hasarının artışına neden olurlar.
- (ii) Kalsiyum Teorisi: Serbest kalsiyum iyonlarının nörotransmitter kanallardan geçişinin artması sonucu doku yıkım enzimleri olan fosfolipaz, proteaz ve fosfatazın aktive olmaları doku harabiyetini ortaya çıkarır.

- (iii) Opiat Reseptör Teorisi: Naloxone gibi opiat reseptör blokörleri nörolojik kazanımı hızlandırır.
- (iv) Enflamasyon Teorisi: Lipit enflamasyon mediatörleri ve diğer sitokinler lezyon alanında sayıca artış gösterirler ve takiben makrofaj ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonuna neden olurlar (Delen, 2011).

2.5. Akut Spinal kord Yaralanmasında Farmakoterapi

Spinal kord yaralanmasında önlenmesi koruyucu hekimliğin kapsamına giren birincil hasar değil birincil hasarı takiben kısa sürede ortaya çıkan ikincil hasarın önlenmesine yönelik farmakoterapik yaklaşımlara başvurulur. İkincil hasarın oluşma teorileri temel alınarak spinal kord yaralanmalarının medikal tedavisinde nöroprotektif etki gösterdiği düşünülen pek çok madde denenmiştir. Opiat reseptör antagonistleri, steroidler (metilprednizolon), antioksidan maddeler ve serbest radikal tutucular, gangliozidler, tirotropin salıcı hormon ve analogları, araşidonik asit modülatörleri, glutamat reseptör blokerleri, monoamin modülatörleri, kalsiyum kanal antagonistleri, nonsteroidal antiinflamatuvarlar, immün supresifler, büyüme faktörleri, serotonin reseptör blokerleri ve sodyum kanal blokerleri bu amaçla kullanılmışlardır. Bunlar arasında sadece metilprednizolon klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır (Hall ve McCall, 1987; Koyanagi ve Tator, 1997; Amar ve Levy, 1999; Kaptanoğlu ve ark, 1999; Kaptanoğlu ve ark, 2000). Ancak, spinal kord yaralanmasına sahip hastalarda metilprednizolonun tedavi etkinliği sınırlı düzeyde kalmıştır ve enfeksiyonlara yatkınlık ile buna bağlı yara iyileşmesiyle ilgili komplikasyonlar görülmüştür (Hulbert, 2000). Bu sebeple spinal kord yaralanmalarında hasta fonksiyonlarında düzelme sağlayacak ve inflamasyonun neden olduğu hasarı azaltacak etkili ve güvenli tedavi yönteminin tespiti klinik açıdan oldukça önemlidir.

2.5.1 Kortikosteroidler ve Levetirasetam

Kortikosteroidler antienflamatuvar, antialerjik ve immünsüpresif etkileri sebebiyle klinikte sık kullanımı ile karşılaşılan, salınımının adrenal korteksten yapıldığı, steroid yapıdaki hormonlar ve sentezlenerek elde edilebilen aynı yapıdaki analoglardır (Samancı ve

Balcı, 2006). Kortikosteroidlerin salınımını adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzenlemektedir (Gilman Goodman ve ark, 1998).

Kortikosteroidlerin %95'i transkordin, kalan kısmı da albumine bağlanmaktadır. Transkordinin kortikosteroidlere karşı ilgisi fazlayken, plazma miktarı ve bağlama kapasitesi azdır. Kortikosteroidler basit difüzyon yolu ile hücrelere nüfuz ederler (Kayaalp, 2000; Rang ve ark, 2003). Sistemik kortikosteroidlerin gastrointestinal sistemde tam olarak emilimi gerçekleşmektedir. Kandaki en üst düzeye 2-8 saatte ulaşırlar. Plazmada yarılanma süreleri 90-180 dakika arasında olup karaciğerde metabolize edilir ve böbrekten atılırlar.

Akut spinal kord yaralanmasının tedavisinde kortikosteroid tedavisi geniş laboratuvar ve klinik çalışmalarda denenmiştir. Kortikosteroidlerin başlangıçta kullanımı spinal ödemi azaltıcı etkisine ve anti-inflamatuar özelliğine bağlanmıştır (Ducker ve Zeidman, 1994). İlk araştırmalarda sadece ılımlı yararı saptanmasına rağmen, yaygın olarak kullanılmaya başlandı. Geniş klinik çalışmalarda metilprednizolonun nörolojik fonksiyonları anlamlı olarak düzelttiği belirtilse de yapılan çalışmaların veri analizlerinin değerlendirilmesi ve çalışma şeklinin oluşturulmasına bağlı olarak çelişkili durumlar içermektedir (Dumont ve ark, 2001).

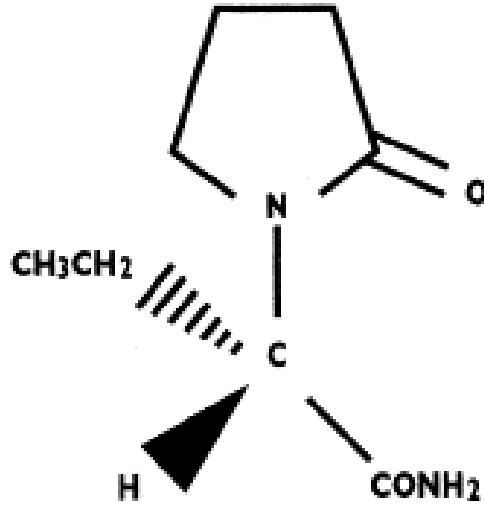
Kortikosteroid ilaç türleri kortizon asetat, hidrokortizon, prednizon, prednizolon, metilprednizolon, triamsinolon, deksametazon, betametazon, mometazon furoat, fludrokortizon asetat, flumetazon pivalat, flusinolon asetonid, diflukortolon valerat, prednikarbat, holometazon, beklometazon dipropionat, flunisolid, flutikazon propionat, deflazakort ve budesoniddir (Kayaalp, 2000).

Klinik çalışmalarda metilprednizolon diğer kortikosteroidler olan deksametazon ve hidrokortizona göre daha güçlü antioksidan özelliği ve hücre membranından daha kolay geçmesi nedeniyle dikkati çekmiştir (Tuma ve ark, 1997). Metilprednizolon sentetik bir glukokortikoid steroid türevidir olup, güçlü anti-inflamatuar etkisi ile akut spinal kord yaralanması tedavisinde klinik olarak kabul görmüş tek seçenek olma özelliğini sürdürmektedir (Marion, 1998). Metilprednizolonun spinal kord hasarını azaltıcı etkisini oluşturmasının birçok mekanizmaya bağlı olduğu düşünülmektedir. Bunların; lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, doku kan akımının ve aerobik enerji metabolizmasının düzenlenmesi ile ilerleyici posttravmatik iskemiden korunma, nöroflament degradasyonunun inhibisyonu, intrasellüler kalsiyum birikiminin engellenmesi, vasoaktif prostoglandin F2 α ve tromboksan A2 formasyonunun inhibisyonu, spinal nöron eksitabilitesinin azaltılması olduğu düşünülmektedir (Dumont, 2001; Marion, 1998).

Spinal kord hasarında metilprednizolon tedavisinin incelendiği ilk geniş klinik çalışma (The National Acute Spinal Cord Injury Study) NASCIS' dir. NASCIS II, 1985 ve 1988 yılları

arasında yapılmıştır (Bracken ve Holford, 1993). Hastalar metilprednizolon (30 mg/kg bolus, ve takiben 24 saat süreyle 5,4 mg/kg/saat devamlı infüzyon), naloksan ve plasebo ile tedavi edilmişlerdir. Metilprednizolonun, ilk 8 saat içinde uygulandığında, nörolojik düzelmeyi belirgin şekilde kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Naloksan veya geç metilprednizolon uygulaması hiçbir olumlu etki göstermemiştir. 1998'de sonuçlanan NASCIS III, metilprednizolonun 24 saat veya 48 saatlik uygulamasının, 21-aminosteroid tirilazad mesylate ile etkinliğinin karşılaştırılması için planlanmıştır. Akut spinal kord yaralanması olup, yaralanmanın ilk 3 saatinde metilprednizolon alan hastaların 24 saat süre ile idame tedavisi almaları gerekirken, travmadan sonraki 3 ile 8 saatte gecikmiş steroid tedavisi alan hastaların 48 saat idame tedavisi almaları gerektiği gösterilmiştir. Tirilazad, metilprednizolona göre daha güçlü bir lipid peroksidasyon önleyici olmasına ve minimal glukokortikoid aktivitesine sahip olmasına rağmen, NASCIS III, bu 21-aminosteroidin klinik kullanımı için mantıklı bir açıklama getirememiştir (Bracken ve ark, 1998). Ancak şu da belirtilmelidir ki, NASCIS II çalışmasına karşıt görüşler süregelmektedir ve pek çok araştırmacı metilprednizolon kullanımını tartışmaktadır (Nesathurai, 1998). Farklı çalışmalar ile elde edilen veriler spinal kord yaralanması sonrası gerek 24 saat ve gerekse 48 saat metilprednizolon kullanımını güçlü bir şekilde desteklememektedir. Yaralanma sonrası 8 saat içinde metilprednizolon kullanımı önerilmektedir fakat ikna edici bir şekilde kanıtlanmamıştır. 24 saat metilprednizolon kullanımı çeşitli medikal komplikasyonları doğurmaktadır. Bu durum 48 saat metilprednizolon kullanımında daha da belirginleşmektedir (Tüzgen, 2017).

Levetirasetam yapısı pirasetama benzeyen tek enantiomerdir (Şekil 11). Levetirasetam, aktivasyon mekanizmasının henüz belirlenemediği antiepileptik ilaçlar sınıfında yer almaktadır (Kwan ve ark, 2001). Kapsamlı klinik öncesi araştırmalar levetirasetamın Na^+ , Ca^{+2} ve K^+ kanalları ya da GABA ve glutamat nörotransmitter sistemleri de dahil olmak üzere, geleneksel hedefler ile herhangi bir doğrudan etkileşiminin olmadığını göstermektedir (Noyer ve ark, 1995). Bilinen nörotransmisyonu ait mekanizmalardan farklı bir etki mekanizmasına sahip olduğu anlaşılmaktadır. SV2A adı verilen sinaptik vezikül protein, levetirasetamın etkisinde temel hedef olarak gözükmemektedir. Bu protein aracılığı ile sinaptik salınım mekanizmalarını etkilemektedir.



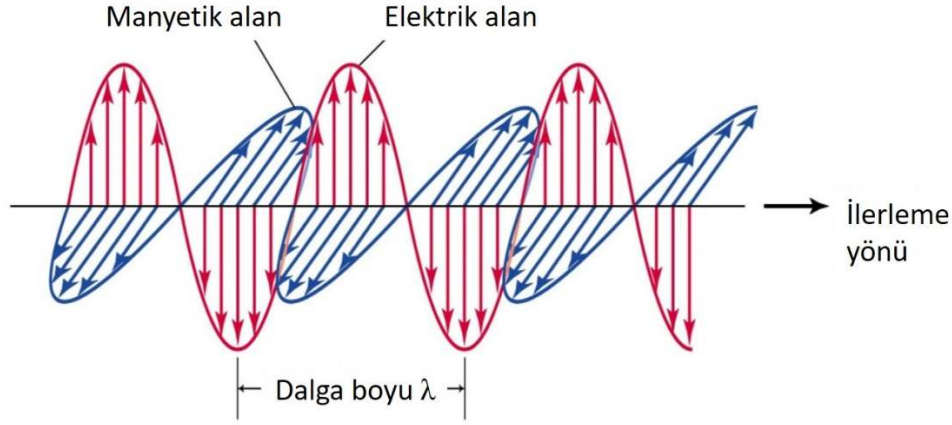
Şekil 11. Levetirasetam moleküler yapısı (Patsalos, 2000)

Levetirasetam iyi tolere edilen, çoğu yan etkisi tolere edilebilen bir ilaçtır (Erdoğan, 2014). Levetirasetam insanlarca oral yoldan kullanıldığında %95'ten fazlası tamamen absorbe edilir ve bir saatlik süre içerisinde de plazma düzeyinde artış gözlenir. Levetirasetam plazma proteinleri ile bağ yapmama özelliği ile de diğer antiepileptiklerden ayrılır. Sıçanlarda, farelerde, tavşanlarda ve köpeklerde yapılan çalışmalarda levetirasetam kan yolu ile dokulara hızla yayılım göstermekte olduğu ve adipoz dokuda düşük konsantrasyonlarda bulunurken, böbreklerde yüksek konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir. Sıçanlarda kan-beyin bariyerini hızla geçtiği ve beyinin hücre dışı yapısına ve serebrospinal sıvı bölümlerine girdiği literatürdeki çalışmalarla belirlenmiştir (Pathalos, 2004). Literatüre bakıldığı zaman etki mekanizması levetirasetamdan farklı olan diğer antiepileptik ilaçlar deneysel spinal kord yaralanması tedavisini inceleyen çalışmalarında kullanılmıştır (Narin ve ark, 2017; Kong ve ark, 2017).

2.6. Manyetik Alan Tedavisi

Noktasal bir enerji kaynağından yarıçapları doğrultusunda çevreye her türlü kütleli, yüklü enerjetik tanecik veya dalgasal enerji yayılmasına ışıma denir. Elektromanyetik ışıma, çok büyük bir hızla uzayda hareket eden enerji türüdür. Görünür ışık, X-ışınları, ısı şeklinde algılanan infrared (kırmızı ötesi) ışınları ve radyo dalgaları bu enerji türlerindendir.

Elektromanyetik ışıma birbirine dik elektrik ve manyetik alan olmak üzere iki bileşenden oluşur. Bu bileşenler Şekil 12’de gösterildiği gibi kendi düzlemlerinde birbirine dik açılarla sinus dalgası şeklinde ilerlerler ve devamlı bir osilasyon yaparlar (Stuart, 1997).



Şekil 12. Bir elektromanyetik dalga ve bileşenleri

Işık, dalga ve tanecik özellikleriyle tanımlanmaktadır. Işının absorpsiyonu (soğurma) veya emisyonu (yayımlanma) olaylarının açıklanmasında dalga modeli yeterli değildir. Bu olaylarda elektromanyetik ışın enerji parçacıkları halindedir ve foton kavramıyla tanımlanır. Bir fotonun enerjisi, ışının frekansı ile orantılıdır. Fotoelektrik etki ışığın tanecik özelliğini ortaya koymaktadır. Işık hem dalga hem de tanecik olma özelliklerini taşır. Elektromanyetik dalgalar, manyetik ve elektrik alanlar etkisiyle oluşurlar. Manyetik alan değişimi, bir elektrik alan oluştururken, elektrik alan değişimi de bir manyetik alan meydana getirir. Dalganın yönü ve hız vektörü elektrik alan ve manyetik alana dik açılı olacak şekildedir. Frekans, bir dalganın saniyedeki titreşim sayısını tanımlar. Frekans, ışık kaynağı tarafından belirlenerek ışının geçtiği ortamdan etkilenmez. Frekansın genel birimi Hz (hertz) dir ve 1 devir/saniyeye eşittir. Dalga boyu (λ), bir dalganın, ardışık iki maksimum veya iki minimum dalgalanma noktası arasındaki doğrusal uzaklığı tanımlar. Dalga sayısı, her bir cm deki dalgaların sayısıdır ve vakumdaki dalga boyu cm birimiyle $1/\lambda$ dir.

Yayımla hızı dalganın bir ortamdan geçiş hızını belirtir, frekans ve ortama bağlıdır. Işının frekansına veya dalga boyuna bağlı olan fotonun enerjisi (E) aşağıdaki bağıntı ile verilir. (h: planck sabiti = $6,63 \times 10^{-27}$ erg.sn; v: frekans; c: ışık hızı; λ :dalga boyu)

$$E = hv, E = hc / \lambda$$

Bir maddeyi oluşturan atom ya da moleküllerden birinin hareketi enerji farkına neden olur, bu da yayımlanan veya soğurulan foton enerjisi ile bağlantılıdır (Bilgin, 2017).

Bu denklemler bir spektroskopik birim olan dalga sayısını ($\bar{\nu}$) hesaplamak için kullanılabilir. Dalga sayısı aşağıdaki denklemde de görülebileceği üzere dalga boyunun tersi olarak tanımlanabilir.

$$\bar{\nu} = \text{dalga sayısı} = (1/\lambda) \text{ [birimi cm}^{-1}\text{]}$$

Bu nedenle, $E = h \bar{\nu} = h c \bar{\nu}$, olarak da ifade edilebilir. Bu denklemlerden de görülebileceği üzere dalga sayısı ve frekans elektromanyetik radyasyonun enerjisi ile doğru orantılıdır.

İnsan vücudu su molekülleriyle sarılmış farklı elementlerin atomlarından meydana gelmiştir. Bu atomlar manyetik ve elektrik kuvvetlere, alanlara tepki verir. Elektromanyetik kuvvetler fizyolojik fonksiyonlarda değişim yaratarak, pozitif ya da negatif olarak organizmayı etkileyebilir. İnsanlar üzerinde manyetik alan etkileri araştırılırken, genel anlamda iki farklı manyetik alan tipi farkedilmiştir. Bunlar (1) büyük bir miktarda etrafında bulunan statik manyetik alan, (2) frekansı 10 Hz'den yüksek olan darbeli manyetik alandır (Andra ve Nowak, 2007). İyonların hücre membranı içinde, dışında ve boyunca hareketleri vücudumuzda elektriksel bir aktiviteye neden olur. Elektrik yüklü parçacıkların hareketi, doğal elektrik akımı, potansiyel farklılıklara neden olur ve in-vitro ölçümü yapılabilen manyetik alandan sorumludur. Bu manyetik alana biyomanyetik alan adı verilir (Williamson ve Kaufman, 1981).

2.6.1. Manyetik Alanın Sinir Yaralanmalarında Kullanımı

Manyetik alan uygulanmasının pek çok hastalık veya metabolik bozukluğun tedavisinde kullanılması önerildiği gibi sinir yaralanmalarının tedavisinde kullanılması da literatürde denenmiş ve önerilmiştir (Markov, 2007) Uygun disiplinler çaba ile manyetik alan tedavisi; kanserin yapmış olduğu tahribat, bazı kalp hastalığı formları, artritis, hormonal bozukluklar gibi hastalıkların yanı sıra ve nörolojik hastalıklar olan alzheimer, spinal kord yaralanması ve multiple sklerozun yayılımının önlenmesinde kullanılabilir (Markov, 2007; Das ve ark, 2012). Manyetik alanın ratlarda spinal kord iyonik kompozisyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir (Miryam ve ark, 2010). Manyetik alan tedavilerinde; darbeli elektromanyetik alanlar (PEMF), statik manyetik alanlar, düşük frekanslı sinüs dalgalar, darbeli radyofrekans alanlar (PRF), transkranial manyetik stimülasyon ve milimetrik dalgalar kullanılır. Statik manyetik alanlar, doğrusal akımla meydana gelir ve frekansları 0 Hz'dir.

Düşük frekanslı sinüs dalga elektromanyetik alanlar; 50-60 Hz frekansındadır. Puls elektromanyetik alanlar; genlikli ve düşük frekanslıdır. Darbeli radyofrekans alanlar; seçici olarak 13,56 MHz, 27,12 MHz ve 40,68 MHz 16 radyofrekans aralığında kullanılır. Transkranial manyetik stimülasyon; kısa ve yoğun manyetik darbeler ile beynin seçici bölgelerine uygulanan bir tedavidir. Milimetrik dalgalar; 30-100 GHz yüksek frekans aralığındadır (Markov, 2007; Keser, 2016).

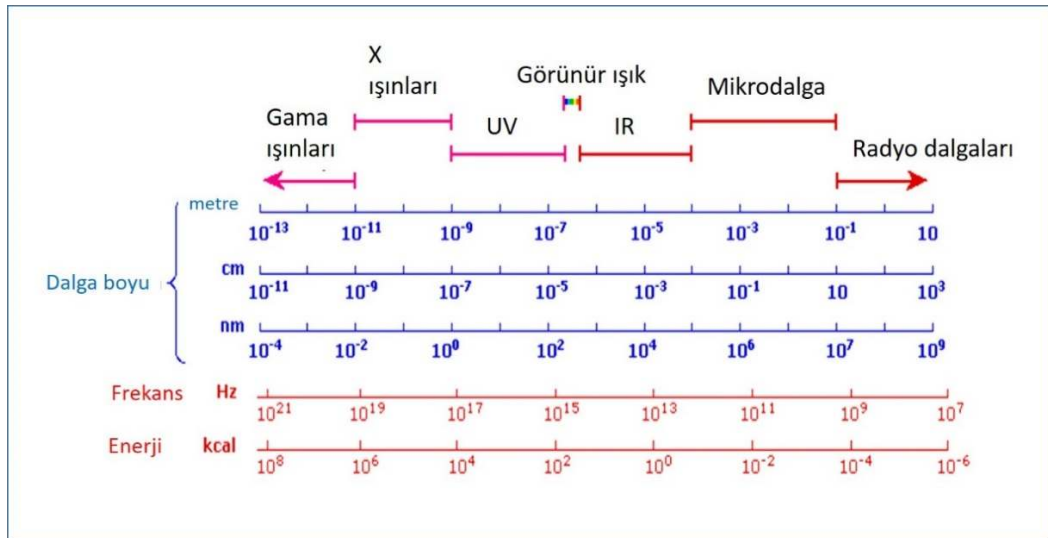
2.6.2. Manyetik Alanın Farklı Patolojik Durumlardaki Etkileri

Statik manyetik alan uygulaması polimerlerin yapısında (Rodin, 1991), sinyal kaskatlarının başlamasında (Wang ve ark, 2010), membran geçirgenliğinin değişmesinde (Liu ve ark, 2011), kan sirkülasyonunun dağılımında (Ohkubo ve Okano, 2011; Okano, 2008) ve ilaçların ve diğer yararlı maddelerin absorpsiyonunun artmasında etkili olabilmektedir. Manyetik alanlar *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda önemli bir antitümör aktivitesine sahiptir. 60 Hz sinüzoidal manyetik alan, kaspaz-3 ile bölünen ve reaktif oksijen alanları tarafından çoğaltılan prostat kanseri hücrelerinin gelişimini önemli oranda engellemiş ve apoptozuna neden olmuştur (Koh ve ark, 2008). Bir statik manyetik alanla kombine edilen düşük frekanslı manyetik alan (0,5-16,5 Hz) fare modelinde Ehrlich asit karsinom gelişimini kayda değer şekilde baskılar (Novikov ve ark, 2009). Son zamanlarda gelişmiş hepatosellüler karsinom hastaları hızlı uygulanan genlik modülasyonlu elektromanyetik alanlarla tedavi edilmiştir ve sonuçlar tedavinin ortaya konmuş, güvenli olduğu kadar iyi tolere edilmiş antitümör etkilerini göstermiştir (Costa ve ark, 2011). 50 Hz manyetik alanın melanoma hücrelerinin varlığını sürdürmesini engellediği ve melanoma hücrelerinde antiapoptotik protein BAG3'ün regülasyon direncini terapi boyunca azalttığı bildirilmiştir (Basile ve ark, 2011). Kısaca fare modellerinde tümör gelişimi zayıf şiddetli manyetik alan tarafından (1-5 nT) baskılanmıştır (Hu ve ark, 2010). Sinüzoidal manyetik dalga uyarısının sıçanlarda osteoporotik kemik kaybına karşı koruyucu etkisinin bulunduğu dair deneysel sonuçlar önerilmiştir (Yan ve ark, 1998). Cruess ve arkadaşlarının (1983), McLeod ve Rubin'in (1990, 1992) ve Simske ve arkadaşlarının (1991) darbeli manyetik alan tarafından kemik kaybı inhibasyonunun aynı deneysel sonuçlara sahip çalışmaları bulunmaktadır. Görüldüğü üzere manyetik alan uygulamasının farklı patolojilerin tedavisinde kullanımı literatürde denenmiş ve olumlu sonuçlar alındığı rapor edilmiştir.

Elektrikli cihazlar ve elektrik hatları tarafından üretilen ayrıca dokuların derinine nüfuz edebilen düşük frekanslı elektromanyetik alanların frekansı 0-300 kHz arasındadır. Düşük frekanslı manyetik alanın bildirilen yararlı etkileri, koksidiyal enfeksiyonlu tavuklarda intestinal lezyonların şiddetinde düşüşü (Elmusharaf ve ark, 2007), yara iyileşmesinde hızlanması (Callaghan ve ark, 2008; Goudarzi ve ark, 2010), sıçanlarda ve insanlarda kemik iyileşmesinde hızlanması (Grana ve ark, 2008; Griffin ve ark, 2008) ve insanlarda bakteriyel değişimlere makrofajların cevabının artışı (Akan ve ark, 2010) kapsar. Ayrıca oksijen radikallerinin modülasyonunu ve sinyal iletim yollarındaki değişimleri kapsayan farklı mekanizmalar önerilmiştir (Liburdy ve ark, 1993; Blank ve Soo, 2001; Rollwitz ve ark, 2004; Frahm ve ark, 2010).

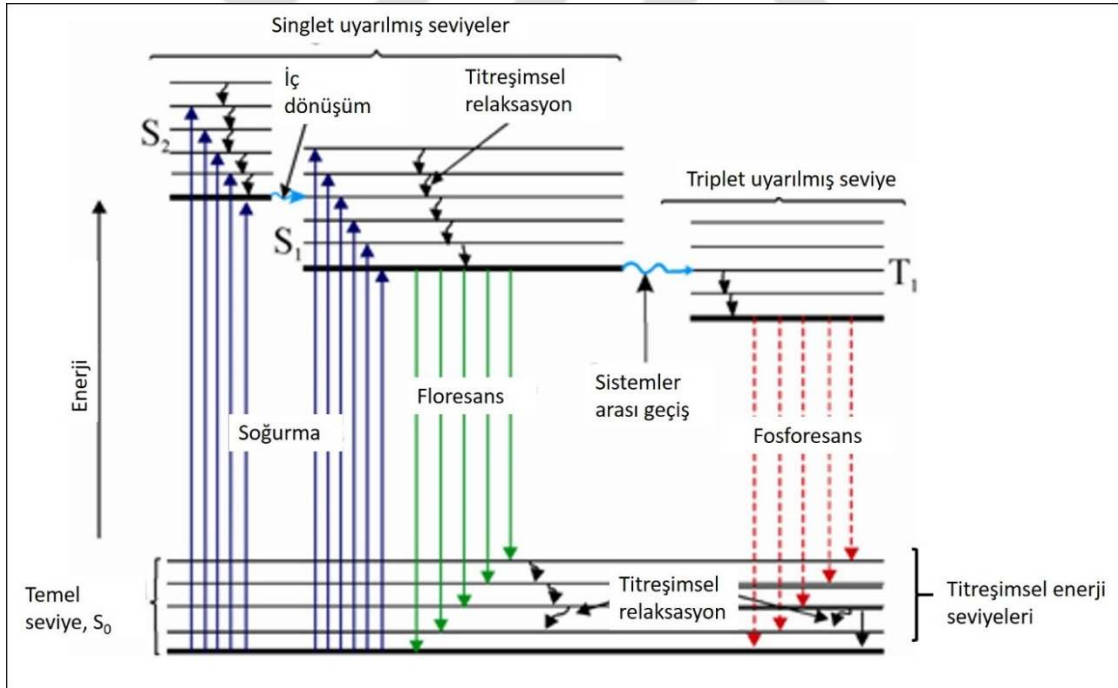
2.7. Elektromanyetik Radyasyon ve Optik Spektroskopik

Spektroskopi, elektromanyetik radyasyon ve madde arasındaki etkileşimi inceleyen bir bilim dalıdır. Spektroskopik yöntemler elektromanyetik spektrum içerisinde yer alan bir elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşimi sonucu oluşan saçılım, soğurma ve emisyon gibi olayları inceler. Şekil 13’de elektromanyetik spektrumun önemli bölgeleri gösterilmektedir.



Şekil 13. Elektromanyetik spektrum

Elektromanyetik radyasyon madde ile etkileşime geçtiğinde oluşabilecek farklı etkileşimlerden en yaygın olarak görülenleri arasında elektromanyetik radyasyonun ilerleyiş yönünün değiştiği saçılım, sahip olduğu enerjinin madde tarafından soğurulması ile oluşan soğurma ve molekülün farklı enerjiye sahip ışık yayması ile sonuçlanan emisyon olayları sayılabilir. Elektromanyetik radyasyonun taşıdığı enerjinin molekül tarafından soğurulması ile molekül uyarılmış seviyeye geçer. Uyarılmış molekül kuantum mekaniği kuralları ile belirlenmiş belirli miktarlarda enerji taşıyabilir. Bu enerji miktarları molekülün enerji seviyeleri olarak tanımlanır. Moleküllerin sahip olabileceği enerji seviyelerini ve bir molekülün elektromanyetik radyasyon ile etkileşime geçtiğinde oluşabilecek olayları gösteren Jablonski diagramı Şekil 14’de görülmektedir. Şekilde görülen ince yatay çizgiler titreşimsel enerji seviyelerini göstermektedir. Temel seviyeden bir üst uyarılmış seviyeye olan geçişler elektronik geçiş olarak isimlendirilirken titreşim enerji seviyeleri arasında gerçekleşen geçişler titreşimsel geçiş olarak isimlendirilebilir. En düşük enerjiye sahip olan elektronik seviye temel durum diğerleri ise uyarılmış durum olarak isimlendirilir (Freifelder, 1982).



Şekil 14. Jablonski diagramı

Bir molekül aynı anda farklı enerji depolarına sahip olabilir ve molekülün sahip olduğu toplam enerji ise aşağıdaki formül ile gösterilebilir:

$$E_{\text{toplam}} = E_{\text{geçiş}} + E_{\text{rotasyon}} + E_{\text{titreşim}} + E_{\text{elektronik}} + E_{\text{elektron spin oryantasyonu}} + E_{\text{nükleer spin oryantasyonu}}$$

Bu enerji geçişlerini incelemek için farklı spektroskopik yöntemler kullanılabilir. Elektromanyetik radyasyon ile etkileşim sonucu elektronik enerji seviyelerinde gerçekleşen geçişler absorpsiyon spektroskopisi ile, titreşimsel enerji seviyelerindeki geçişler kızılötesi ve Raman spektroskopileri ile, nükleer spin oryantasyonundaki değişimler nükleer manyetik rezonans spektroskopisi ile ve elektron spin oryantasyonundaki değişimler elektron spin rezonans spektroskopisi ile incelenebilir (Freifelder, 1982).

2.7.1. Kızılötesi Spektroskopisi

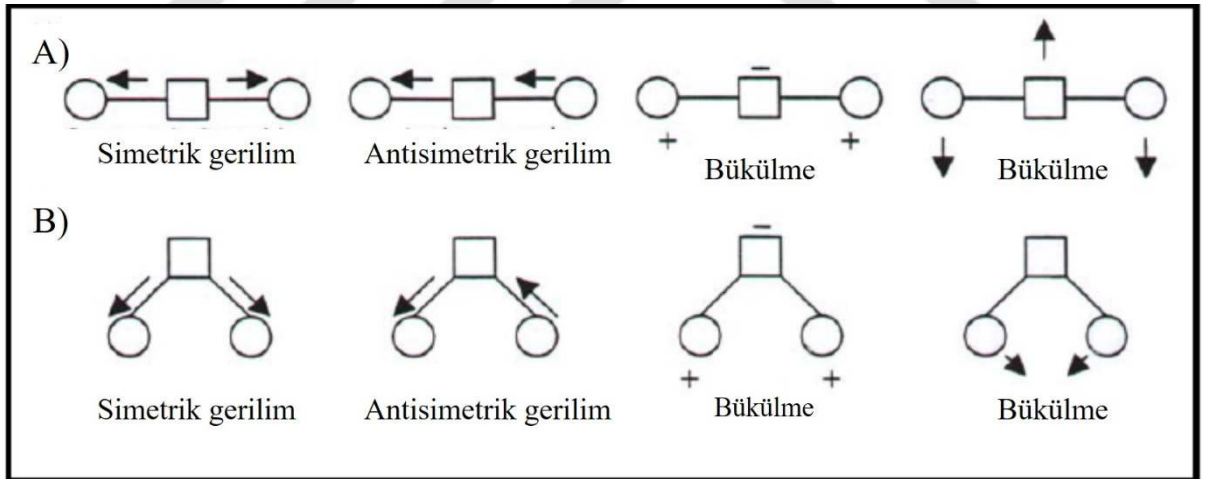
Spektroskopik metotlar içinde yer alan kızılötesi spektroskopisi, elektromanyetik spektrumun kızılötesi bölgesinde yer alan ışığın madde ile etkileşimi ile oluşan soğurmaya ölçen bir yöntemdir. Kızılötesi spektroskopisinin temel prensibi moleküllerin kızılötesi ışığını (IR) soğurmaları sonucu oluşan titreşimsel geçişlerin görüntülenmesidir. Dalga boyları 780 nm-1.000.000 nm aralığında olan kızılötesi (IR) ışınlar yakın, orta ve uzak kızılötesi olmak üzere üç bölgede incelenebilir (Smith, 1999).

<u>Bölge</u>	<u>Dalga sayısı aralığı (cm⁻¹)</u>
Yakın	14000-4000
Orta	4000-400
Uzak	400-4

Bir moleküldeki atomlar sürekli hareket ederler ve bu öteleme, dönme, kimyasal bağ uzunluğundaki periyodik değişim gibi hareketler titreşime sebep olur. Kızılötesi bölgede örneğe uygulanan ışık, örnek tarafından soğrulur ve moleküllerdeki titreşim enerji seviyeleri arasında geçişlere neden olur. Bu uyarım moleküler bağları bozamaz, elektronik seviyede geçişlere neden olmaz, fakat bağların titreşim genliklerinde artışa neden olur. Bu artış, atom kütlelerine, molekülün geometrik yapısına ve bağların gücüne bağlıdır (Gündüz, 1998; Skoog ve ark, 1998; Yıldız ve ark, 1997).

Moleküllerin atomlarında görülen titreşim nedeni ile oluşan elektrik alanının salınımı uygulanan kızılötesi ışık ile aynı frekansa sahip olduğunda moleküler titreşimin genliği

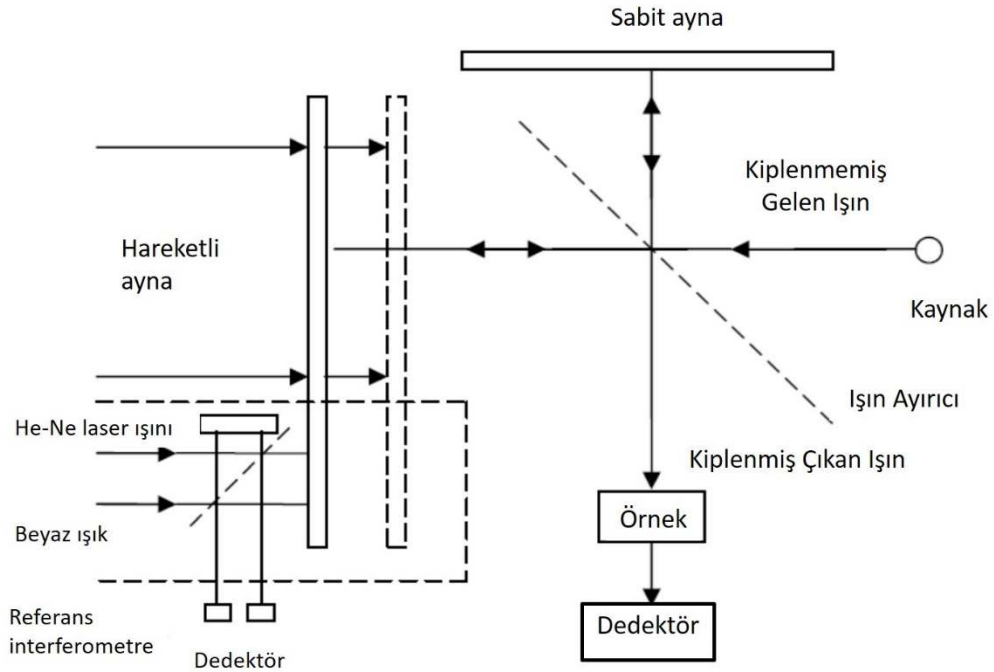
değişir ve ışığın enerjisi molekül tarafından soğurulur. Bir molekülün kızılötesi ışığı soğurulabilmesi için titreşim ile birlikte dipol momentinde belirli bir değişme olmalıdır. Dipol, moleküler bağın içerisinde bir yük ayrımı olduğunda oluşur. Eğer zıt yüklü iki molekül aralarındaki bağ gerilir veya bükülürken uzağa gider ya da yaklaşırsa dipol moment değişir. Asimetrik moleküller ağırlık merkezi etrafında dönerek ışınla etkileşebilen periyodik bir dipol değişim oluşturur. Genellikle polar bağlar IR aktiftir. Bir molekül içinde atomların bağlı yerleri (birbirine göre yerleri) kesin değildir, titreşimler sonucu devamlı olarak değişir. Gözlenen moleküler titreşimler farklı gruplara ayrılabilir. Temelde kızılötesi spektroskopisi ile incelenebilen iki ana titreşim mevcuttur, bunlar gerilme ve bükülme olarak isimlendirilir (Şekil 15). Gerilme titreşimleri molekülün bağ uzunluğunda değişime neden olurken bükülme titreşimleri molekülün bağ açısında değişime neden olabilirler. Gerilme (esneme) titreşimleri bir molekül içerisindeki farklı bağ uzunluklarının uzama yönüne göre simetrik ve asimetrik gerilme olarak ikiye ayrılabilir. Bu iki ana moleküler titreşimin yanı sıra moleküllerde makaslama, sallanma, salınma, kapling titreşimleri, overton titreşimleri, kombinasyon titreşimleri görülebilir (Freifelder, 1982; Yıldız ve ark, 1997; Gündüz, 1998; Skoog ve ark, 1998; Severcan ve ark, 2005).



Şekil 15. Triatomik moleküllerde (A) ve lineer olmayan triatomik moleküllerde (B) oluşan bazı moleküler titreşimler. (+) ve (-) sembolleri kağıt düzlemi dışındaki atomik yer değişimlerini temsil etmektedir (Arrondo ve ark, 1984).

2.7.2. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Kullanım Avantajları

Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi 1980'lerin başından beri araştırmalarda artan bir kullanım alanı bulmuştur. FTIR spektrofotometresinin temel elemanları Şekil 16'da görülmektedir. Bu metot temelde bir kızılötesi spektroskopisi olmakla birlikte temelinde elektromanyetik spektrumun orta-IR bölgesindeki ışığın bir ışın ayırıcı ile ayrıldıktan sonra iki ışının etkileşimi ile bir interferogram oluşturulması prensibine dayanır. Bu işlem FTIR spektrofotometresi içerisinde yer alan bir interferogram tarafından gerçekleştirilir.



Şekil 16. FTIR spektrofotometresinde yer alan temel bileşenler

Michelson interferometre içerisinde biri sabit biri hareket edebilen iki adet ortogonal ayna yer alır. Işın ayırıcıdan geçen kızılötesi ışık birbirine 90 derece açı ile iki yöne ayrılır. Bu ışıklardan biri hareketsiz ayna üzerine gider, geri yansır ve ışın ayırıcıya geri döner. Diğer ışın ise hareketli aynaya gönderilir ve aynanın hareketi sabit aynadan yansıyan ışına nazaran ışık yolu uzunluğunun değişmesine neden olur. Ayrılmış olan iki ışın ışın ayırıcı üzerinde karşılaştığında tekrar birleşirler ve ışığın kat ettiği yoldaki değişimler yapıcı ve yıkıcı etkileşimlerin (interferans) oluşması ile interferogram ortaya çıkar. Daha çabuk tarayan interferometreler için genellikle sıvı nitrojen ile soğutulan civa-kadmiyum-tellürid (MCT)

dedektörler kullanılır. Daha yavaş tarama yapan interferometrelerde ise piroelektrik dedektörler (dötöre triglisin sülfat (DTGS) dedektör elemanı gibi) kullanılabilir. Temel olarak dedektör tüm frekansları aynı zamanlı gözlemektedir (Griffiths, 1986). FTIR spektrofotometrelerinde interferometre yardımıyla elde edilen mesafe ve frekans bilgileri Fourier dönüşüm matematiksel metodu ile birbirine dönüştürülebilir. Kaynaktan gelen ışın, ışın yolu uzunluğu bir girişim deseni verecek şekilde periyodik olarak değişebilen iki ayrı ışın demetine ayrılarak kodlama yapılır, verilerin işlenmesinde Fourier dönüşümü kullanılır. Gelen sinyalin çözülmesi için Fourier dönüşümü kullanımı rutin bir şekilde bilgisayarlar ile yapılabilmektedir. Fourier dönüşüm basit olarak her bir frekansın çözülünerek kızılötesi spektrum şeklinde gösterildiği bir matematiksel araç olarak kullanılır.

Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi kızılötesi dalga boyunda elektromanyetik ışınma uygulamasıyla moleküllerin titreşimlerini ölçerek değişik titreşim gruplarını görüntüleyen ve böylece örnek içerisindeki moleküller hakkında önemli bilgiler veren hassas bir tekniktir. FTIR spektroskopisinden elde edilen bir spektrum, bir bileşiğin yapısındaki bağ türleri, fonksiyonel gruplar ve dolayısı ile sistemde mevcut moleküllerin belirlenmesi; bunların konsantrasyonu ile yapı ve fonksiyonu hakkında önemli bilgiler verir. FTIR spektroskopisi ile kullanılan örneğe zarar vermeden biyolojik sistemler hakkında değerli bilgiler elde edilebilir (Ozek ve ark, 2009, Garip ve ark, 2009). Bir bileşiğin titreşim spektrumu o bileşiğe özgüdür ve optik izomerler dışında hiçbir bileşiğin titreşim spektrumu bir başkası ile aynı değildir. Her bir fonksiyon grubunun teşhisi o grup için belirgin olan titreşim frekansları ile sağlanır. Değişik fonksiyonel gruplara ait titreşim frekansları, daha önce literatürde yer verilen bilgilerden veya atlaslardan faydalanılarak tanımlanmaya çalışılır.

Bu teknik kullanılarak çok düşük konsantrasyondaki örnekler hem *in vivo* hem *in vitro* koşullarda incelenebilmekte; protein, lipid, DNA, kolesterol, karbohidrat gibi hücrelerin yapıtaşları moleküllerinin fonksiyonel gruplarındaki değişimler ve dolayısıyla bu fonksiyonel grupların ait oldukları moleküllerdeki değişimler hassaslıkla belirlenebilmektedir (Toyran ve ark, 2006; Bozkurt ve ark, 2010; Ozek ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011; Sen ve ark, 2015). FTIR spektroskopisi sağladığı yüksek sinyal-gürültü oranı ile düşük transmittansa sahip sulu protein çözeltilerinin de incelenebilmesine olanak sağlamakta (Pelton ve Mclean, 2000); özellikle proteinlerin ikincil yapı ve miktarları hakkında önemli bilgiler elde edilebilmektedir (Haris ve Severcan, 1999; Nilsson, 2004).

Genel olarak FTIR spektroskopisinde kullanılan değişkenler bant şiddeti / bandın altında kalan alan, bant konumu (frekans değeri) ve bant genişliğidir. Bant şiddeti ve alanı maddenin konsantrasyonu hakkında bilgi verirken, bant konumu düzen/düzensizlik hakkında,

bant genişliği ise dinamik hakkında bilgi verir (Cameron ve Charette, 1981; Cakmak ve ark, 2006). Özellikle biyolojik çalışmalarda, biyolojik sistemlere zarar vermeden moleküler düzeyde inceleyebilmesi nedeniyle FTIR spektroskopisi tekniği daha da önem kazanmaktadır (Melin ve ark, 2001; Cakmak ve ark, 2006; Gorgulu ve ark, 2007; Ozek ve ark, 2010; Bozkurt ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011).

FTIR spektroskopisinin yaygın bir şekilde kullanılmasının altında yatan nedenler çeşitlidir:

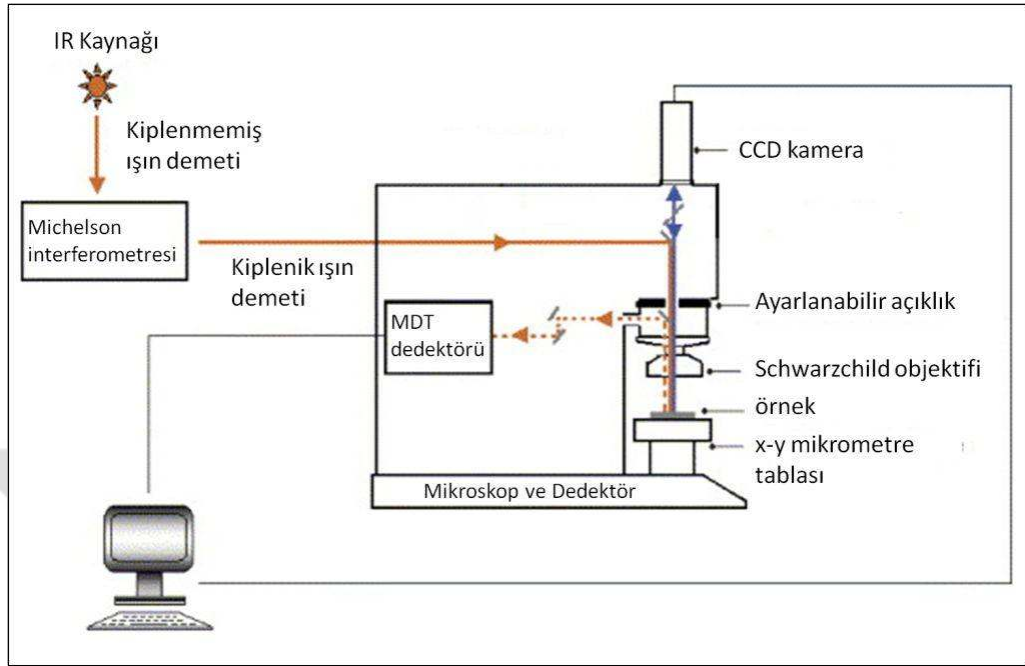
- (i) örnek hazırlama işlemlerinin daha kolay olması;
- (ii) örneklerin gaz, sıvı ve katı hallerinde incelenebiliyor olması;
- (iii) nitel yorumların yapılabilmesi ve
- (iv) verilerin hızlı bir şekilde elde edilebilmesi.
- (v) örnek içerisinde yer alan lipid, protein, karbonhidrat gibi farklı makromoleküllere ait bilgilerin aynı anda tek bir spektrum ile elde edilebilmesi.
- (vi) örnek içerisindeki bileşenlere ait içeriksel, yapısal ve dinamik bilgilerin elde edilebilmesi.

FTIR spektroskopisi ayrıca biyolojik çalışmalar açısından lipidlerin diğer biyomoleküllerle etkileşimleri, proteinlerin ikincil yapılarının belirlenmesi, kanser, diyabet gibi patolojik durumların doku ve membran düzeyinde tanımlama ve teşhisi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Mantsch, 1984; Ramesh ve ark, 2002; Dogan ve ark, 2007; Gasper ve ark, 2009; Severcan ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011; Sen ve ark, 2015). FTIR spektroskopisi tekniği ile çok çeşitli katı ya da sıvı örnekler hızlı bir şekilde incelenebilir.

2.7.3. Fourier Dönüşüm Kızılötesi Mikrospektroskopik Görüntüleme (FTIRMI) ve Kullanım Avantajları

Son yıllarda FTIR spektroskopisi ile kombine edilerek geliştirilmiş olan FTIR mikrospektroskopik görüntüleme (FTIRMI) tekniği sayesinde ön hazırlık gerektirmeden ve boyama uygulanmadan, çalışılan örneğin kesitindeki ilgili bölge boyunca noktasal spektrumlar ya da organik fonksiyonel grupların dağılımı ve konsantrasyonunu temsil eden kimyasal haritalar elde edilebilir (Kidder ve ark, 1997; Kneipp ve ark, 2002; Bozkurt ve ark, 2016). Elde edilen kimyasal haritanın her pikselinden bir FTIR spektrumu elde edilebilir. Böylelikle yöntem, FTIR spektroskopisinin getirdiği avantajları incelenen örneğe ait kesit

içerisinde farklı bölgelerin incelenebilmesine olanak sağlayarak bir üst seviyeye çıkarır. FTIR mikrospektroskopisi çalışma prensibi Şekil 17’de gösterilmektedir.



Şekil 17. FTIR mikrospektroskopu çalışma prensibi (Gazi ve ark, 2006)

FTIR mikrospektroskopi yönteminin avantajları şöyle sıralanabilir:

- (i) FTIR mikrospektroskopi ile toplanan görsel haritalar her bir pikselinde örneğin o bölgesine ait yüksek kaliteli spektrumlar içerir, böylelikle görsel bilgi ile eş zamanlı örneğin belirli bölgesindeki spektrumlar da elde edilebilir.
- (ii) Analizler için çok küçük miktarlarda örnek kullanımı yeterlidir.
- (iii) FTIR görüntüleme örnek içindeki makromoleküler titreşimlerin karakteristik absorbandsına dayandığı için örneklerin, herhangi bir ön işleme tabi tutulmasına, değişik tekniklerle boyanmasına veya işaretlenmesine gerek yoktur. Bu yönüyle FTIR mikrospektroskopi yöntemi örneğe zarar vermeyen bir metottur (Kazarian ve Chan, 2006; Kretlow ve ark, 2008).
- (iv) Örneğin kimyasal haritaları yüksek çözünürlükle elde edilir. (Jackson ve ark, 1998).

Bu nedenlerle, hastalıkların dokularda neden oldukları patolojileri sistemi bozmadan, etkin ve hassas bir şekilde saptamak ve patolojik bölgeleri FTIR mikrospektroskopisi ile incelemek mümkün olmaktadır (Camacho ve ark, 1999; Fernandez ve ark, 2005; Toyran ve ark, 2006; Krafft ve Sergio, 2006; Lin ve ark, 2007; Boskey ve Camacho, 2007; Cakmak ve

ark, 2012; Bozkurt ve ark, 2012; Bozkurt ve ark, 2016). Bu sayede doku örneklerinden alınan kesitler direk olarak FTIR mikroskobu ile çok daha hassas bir şekilde incelenerek dokuların bütünselliği tahrip edilmeden çeşitli bölgelerindeki değişiklikler araştırılabilmekte ve patolojik bölgeler tespit edilebilmektedir. Bu nedenlerle FTIR mikrospektroskopisi kanser (Yano ve ark, 2003; Meyer ve ark, 2011), diyabet (Toyran ve ark, 2006; Bozkurt ve ark, 2012; Bozkurt ve ark, 2016), Alzheimer hastalığı (Griebe ve ark, 2010), artrit (Boskey ve Camacho, 2007) ve kemik hastalıkları (Bozkurt ve ark, 2016) gibi pek çok hastalığın karakterizasyonu ve moleküler incelenmesinde ayrıca radyasyonun etkilerinin belirlenmesi (Cakmak ve ark, 2012) gibi konularda etkin bir biçimde kullanılmaktadır.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Grupları

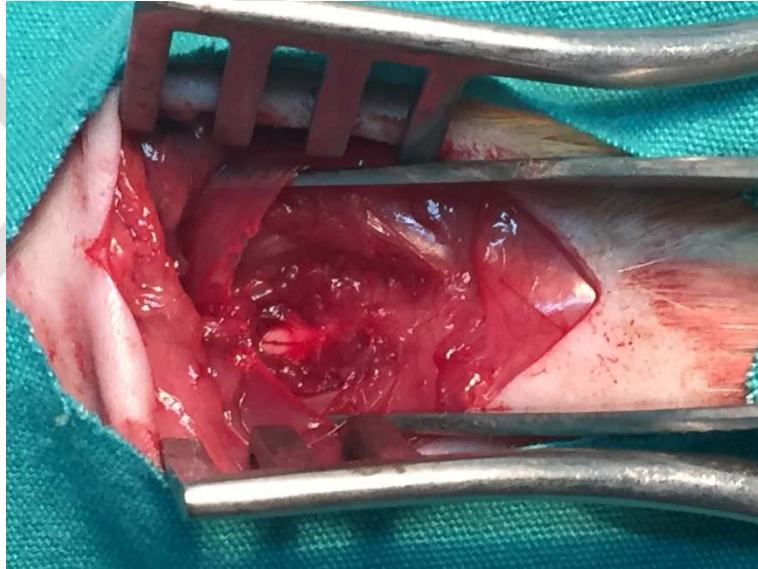
Çalışmada gerçekleştirilen tüm hayvan deneyleri, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınarak (etik kurul karar no: 64583101/2016/122) Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edilen ortalama 280-330 gr. ağırlığında 46 adet erkek, erişkin (11 haftalık) Wistar-albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar, havalandırılması kontrol edilen semiklimatize laboratuvar koşullarında, $22\pm1^{\circ}\text{C}$ çevre sıcaklığı, %40-60 bağıl nemde ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde tutularak standart yem ve su ile beslendi.

Sıçanlar, altı ayrı gruba ayrılarak çalışma grupları oluşturuldu.

1. Laminektomi Grubu (L) (n=9): Bu gruptaki sıçanlara yalnızca laminektomi uygulandı.
2. Laminektomi – Travma Grubu (T) (n=8): Bu gruptaki sıçanlara laminektomi sonrası spinal korda T7-T10 seviyesinde hasar uygulandı.
3. Laminektomi – Travma – Metilprednizolon Grubu (MP) (n=7): Bu gruptaki sıçanlara laminektomi sonrası spinal korda T7-10 seviyesinde hasar verildi ve metilprednizolon tedavisi uygulandı.
4. Laminektomi – Travma – Levetirasetam Grubu (LEV) (n=7): Bu gruptaki sıçanlara laminektomi sonrası spinal korda T7-10 seviyesinde hasar verildi ve 21 gün süre ile 100 mg/kg levetirasetam tedavisi uygulandı.
5. Laminektomi – Travma – Manyetik Alan Grubu (MA) (n=8): Bu gruptaki sıçanlara laminektomi sonrası spinal korda T7-10 seviyesinde hasar verildi ve 21 gün süre ile günde 30 dakika 50 Hz 1mT manyetik alan tedavisi uygulandı.
6. Laminektomi – Travma – Levetirasetam – Manyetik Alan Grubu (LEVMA) (n=8): Bu gruptaki sıçanlara laminektomi sonrası spinal korda T7-10 seviyesinde hasar verildi, 21 gün süre ile 100 mg/kg levetirasetam ve 50 Hz 1mT manyetik alan tedavisi uygulandı.

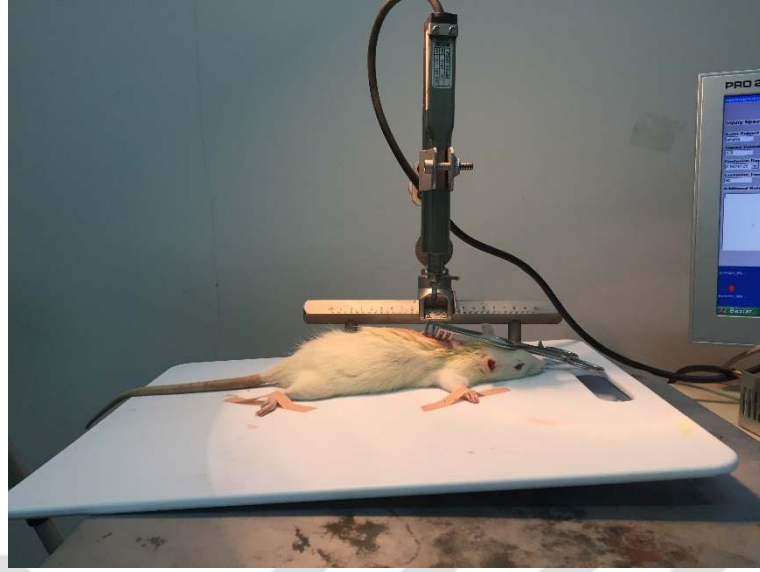
3.1.2. Deneysel Spinal Kord Modeli Oluşturulması

Denekler, 60 mg/kg ketamin-HCl (Alfamine %10, Alfasan, Hollanda), 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne %2, Alfasan, Hollanda) karıştırılarak hazırlanan anesteziğın intraperitoneal uygulanması ile uyutuldu. Cerrahi işlem sırasında antisepsi kurallarına uyuldu. Tım hayvanların anestezi altında sırt bılgesi traş edilerek Polivinil pırolidon iyod (Drogsan Ankara) ile lokal antisepsi uygulandı. İnterskapuler mesafe referans alınarak prone pozisyonda T5-12 seviyesinde cilt, cilt altı dokular geçildi. Paravertebral kas fasyası geçilerek kaslar laterale sıyrıldı. Torakal 7-10 laminaları gırılarak total laminektomi uygulandı. Bu işlem yapılırken hayvanların dura materlerinin zedelenmemesine dikkat edildi (Resim 1).



Resim 1. T7-10 seviyesinde total laminektomi uygulanmış denek

Bundan sonraki aşamalarda gruplara gşe farklı işlemler uygulandı. 1. gruptaki hayvanların katları 3/0 atravmatik ipek ile anatomisine uygun kapatıldı ve steril gazlı bez ile pansuman yapıldı. Grup 1 haricindeki diğır deney gruplarında bilgisayar kontrollő yaralama PinPoint PCI3000 cihazıyla (Hatteras Instruments, ABD, laminektomi sonrası T10 seviyesinde orta spinal kord travması oluşturuldu (Resim 2). Travma, kord yőzeyinin yuvarlık 2 mm çaplı uçla, 1 mm derinlikte ve 1,5 m/s hız ile 85 ms sőresince bir defa vurulmasıyla oluşturuldu. Travma oluşturulduktan sonra katlar 3/0 atravmatik ipek ile anatomisine uygun kapatıldı ve steril gazlı bez ile pansuman yapıldı.



Resim 2. Bilgisayar kontrollü yaralama cihazı (Bilgen, 2005)

3.1.3. Metilprednizolon Uygulanması

Bu gruptaki sıçanlarda laminektomi uygulaması ardından spinal kord hasarı oluşturuldu ve spinal travmadan hemen sonra 30 mg/kg metilprednizolon (Prednoll 40 mg ampul, Mustafa Nevzat İlaç Grubu, İstanbul) yükleme dozu uygulandı. Travmayı takiben 6 saatte bir olmak üzere 24 saatlik süre boyunca 5,4 mg/kg intraperitoneal yol ile idame doz ilaç enjeksiyonuna devam edildi. Tedavisi tamamlanan sıçanlar 21 gün süre ile izlendi ve skorlamaları gerçekleştirildi.

3.1.4. Levetirasetam ve Manyetik Alan Uygulaması

Çalışma grupları içerisinde yer alan ve manyetik alan uygulaması yapılan MA ve LEVMA gruplarındaki Wistar sıçanlar 50 Hz'lik düşük frekanslı manyetik dalgalara manyetik alan şiddeti 1 mT olacak şekilde 21 gün boyunca günde 30 dakika maruz bırakıldı. Bu uygulama amacıyla iki adet selenoid manyetik alanın etkisinin engellenmemesi için faraday kafesi içerisine yerleştirildi. Teslametrenin (Phywe, Almanya) probu selenoidlerin orta noktasında tutularak manyetik alan şiddeti 1 mT'ya ayarlandı. Sıçanlar dörtlü gruplar halinde

delikli, pleksiglas kafeslere konularak 30 dakika manyetik alana maruz bırakıldı. İç ve dış sıcaklık ölçer termometrenin probu selenoid içine konularak selenoid içi ve faraday kafesi dışı sıcaklık farkının 1°C'yi geçmemesine ve ortam sıcaklığının 22°C±1 olmasına dikkat edildi. Bu nedenle, 30 dakikalık manyetik alan uygulamasını takiben selenoidler 1 saat kapatılarak sıcaklığın dengede tutulması sağlandı.

Çalışma gruplarında yer alan ve levetirasetam uygulaması yapılan LEV ve LEVMA gruplarındaki Wistar albino sıçanlara 21 gün boyunca fizyolojik su içerisinde homojen olarak çözünmüş 100 mg/kg dozunda levetirasetam (Epixx, Abdi İbrahim, İstanbul) vücut ağırlıklarına karşılık gelecek şekilde oral gavaj ile uygulandı. Tedavi süresinde deney hayvanları dörderli kafeslerde normal yem ve su ile beslendi.

Tedavi süreci olan 21 gün sonunda tüm gruplardaki deneklere ketamin (70 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) ile intraperitoneal anestezi yapıldı. Anestezi altındaki sıçanların kan örnekleri toplanarak EDTA içeren tüplere konulup kan plazmaları ayrıldı. Sıçanlar anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Laminektomi yapılarak tüm deneklerdeki spinal kord örnekleri toplandı. Yapılacak incelemeler için hasarlı bölgeden iki parçaya ayrılan spinal kord örnekleri hızlıca sıvı azot içinde dondurularak çalışma zamanına kadar -80°C'de saklandı.

3.2. Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi

Spinal kord yaralanması sonrası gelişen davranışsal sonuçları değerlendirmek için BBB skorlaması Basso ve ark. (1995) tarafından geliştirilmiştir. BBB skorlaması spinal kord yaralanması sonrası tedavilerde davranışsal sonuçların ölçümünde araştırmacılar tarafından sıklıkla tercih edilmektedir. Bu skala çok merkezli hayvan spinal kord yaralanma çalışmalarında (Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study- MASCIS) ve halen nörotravma literatüründe yaygın olarak kullanılmaktadır.

BBB skorlaması ile; arka ayaklarda hiç hareket olmamasından (0 puan) tam vücut stabilitesi ve kuyruğun havada olmasına kadar (21 puan) çok geniş aralıklarda lökomotor hareket değerlendirilir. 21 puanlı bu skalada 0 ile 7 puan arası ölçümler müdahale sonrası erken dönemde arka ayakların eklem hareketleri, 8 ile 13 puan arası ara dönemde adım atma ve koordinasyon, 14 ile 21 puan arası geç dönemde parmak temizleme hareketi ve pençe rotasyonu değerlendirilir (Tablo 2). BBB skalası, veriler hakkında sürekli değil ara dönemlerde bilgi verir.

Tablo 2. BBB skalası ve fonksiyonel davranışsal değerlendirme kriterleri (Basso ve ark, 1995)

I: İyileşmenin erken döneminde (Arka ekstremitte hareketleri)

0-Gözlenebilen arka ekstremitte (AE) hareketi yok

1-Bir veya iki eklemden hafif hareket (Genelde diz ve/veya kalça)

2-Bir eklemden geniş hareket veya bir eklemden geniş hareket + diğer eklemden hafif hareket

3-İki eklemden geniş hareket

4-Üç eklemden hafif hareket (AE) (Kalça, diz, ayak bileği)

5-İki eklemden hafif hareket+üçüncü eklemden geniş hareket

6-İki eklemden geniş hareket +üçüncü eklemden hafif hareket

7-Üç eklemden geniş hareket (AE)

II: İyileşmenin Orta Döneminde (Adım atma koordinasyonu)

8-Ağırlığını taşımadan sürünmek veya pençenin plantar yerleştirilmesi

9-Ağırlığını taşıyarak pençenin plantar yerleştirilmesi veya tek bir defa, ara sıra , sık sık , sürekli ağırlığını kaldırarak dorsal adımlama + plantar adımlama yok

10-Ara sıra ağırlığını taşıyarak plantar adımlama. Ön ekstremitte (ÖE) arka ekstremitte koordinasyonu yok

11-Sık sık, sürekli ağırlığını taşıyarak plantar adımlama ve ÖE, AE koordinasyonu yok

12-Sık sık, sürekli ağırlığını taşıyarak plantar adımlama ve ara sıra ÖE, AE koordinasyonu mevcut

13-Sürekli ağırlığını kaldırarak plantar adımlama ve sık sık ÖE, AE koordinasyonu

III: İyileşmenin Geç Döneminde (Ayrıntılar, ince hareketler)

14-Sürekli ağırlığını taşıyarak adımlama, sürekli ÖE, AE koordinasyonu veya hareket sırasında predominant pençe pozisyonunda yuvarlanma veya sık plantar adımlama, sürekli ÖE, AE koordinasyonu, arasıra dorsal adımlama

15-Sürekli ÖE, AE koordinasyonu, parmak temizleme hareketi yok veya ekstremitenin öne ilerletilmesi ile arasıra parmak temizleme hareketi, ilk dokunuşta predominant pençe hareketi vücuda paralel

16-Yürüyüş sırasında sürekli ÖE, AE koordinasyonu, ekstremitenin öne ilerletilmesi ile sık sık parmak temizleme hareketi; ilk dokunuşta predominant pençe hareketi paralel ve kaldırıldığında yuvarlak

17-Yürüyüş sırasında sürekli ÖE, AE koordinasyonu, ekstremitenin öne ilerletilmesi ile sık sık parmak temizleme hareketi; ilk dokunuşta ve kaldırıldığında predominant pençe hareketi paralel

18-Yürüyüş sırasında sürekli ÖE, AE koordinasyonu ve ekstremitenin öne ilerletilmesi ile sürekli parmak temizleme hareketi, ilk dokunuşta predominant pençe hareketi paralel ve kaldırıldığında yuvarlak

19-Yürüyüş ile sürekli koordineli ÖE, AE hareketi, ekstremitenin öne hareketi ile sürekli parmağı temizleme hareketi; ilk dokunuşta ve kaldırıldığında predominant pençe hareketi paralel

20-Sürekli koordineli yürüyüş, sürekli parmak temizleme hareketi, ilk dokunuşta ve kaldırıldığında predominant pençe hareketi paralel; fakat gövde instabilitesi var; kuyruk sürekli havada

21-Koordineli yürüyüş, sürekli parmak temizleme, predominant pençe pozisyonu paralel, sürekli gövde stabilitesi, kuyruk sürekli havada

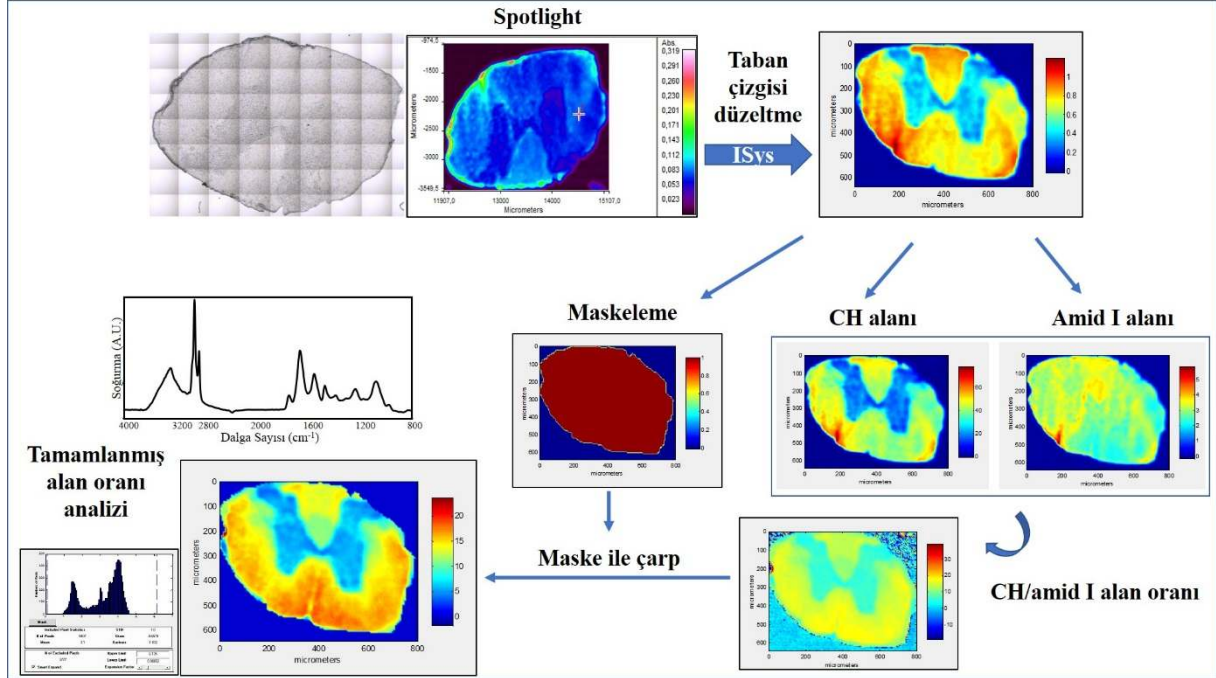
Fonksiyonel iyileşmenin davranışsal değerlendirilmesi Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) davranış derecelendirme skalası kullanılarak yapıldı (Tablo 2). Tüm değerlendirmeler, tedavi grupları hakkında bilgi sahibi olmayan, aynı kişi tarafından yapılacak şekilde planlandı. Deneklerin fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi, spinal travma sonrasında 1., 3., 7., 14. ve 21. günlerde yapıldı ve skorlar kaydedildi.

3.3. FTIR Mikrospektroskopik İncelemeler ve Veri Analizi

Tüm çalışma gruplarından elde edilen spinal kord örneklerinden soğutmalı mikrotom (Shandon, A.B.D.) kullanılarak 12 µm kalınlığında kesitler alınarak özel kızıl ötesi ışığı geçiren BaF₂ camlara (Spectral Systems, A.B.D.) yerleştirildi. Kesitler gece boyunca soğuk odada vakum altında kurutuldu. Örneklerle ait FTIR spektral haritaları, IR mikroskop görüntü odak düzlemine yerleştirilmiş sıvı azot soğutmalı civa-kadmiyum-tellürür (MCT) odak düzlemi sıralı detektörü ile hızlı tarama yapan bir FTIR spektrometresinden oluşan Perkin Elmer Spektrum Spotlight 400 Görüntüleme Sistemi (Perkin Elmer Instruments, Boston, MA, A.B.D.) kullanılarak elde edildi. Her bir deneğe ait kesitlerin tümü öncelikle 25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu ile taranarak kesitin tümü hakkında bilgi elde edilebilecek şekilde spektral haritalar elde edildi. Daha sonrasında detaylı analizde kullanılmak üzere FTIR spektral haritaları 6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu ile geçirme (transmission) modunda 4 cm⁻¹ spektral çözünürlük ile 4000-750 cm⁻¹ frekans aralığında toplandı ve piksel başına dört spektrumun ortalaması olacak şekilde kaydedildi. Her kesitten dört farklı bölgeden 6,25 x 6,25 µm piksel boyutu kullanılarak spektral haritalar kaydedildi. Hava içerisinde bulunan karbondioksit ve su buharının toplanan spektrumlar ile etkileşmesinin önlenmesi amacıyla verilerin toplanmasının öncesinde hava ve boş BaF₂ camının spektrumu kaydedilerek (background) elde edilen tüm doku spektrumlarından Spotlight Autoimage yazılımı (Perkin Elmer Instruments, Boston, MA, ABD) yardımıyla otomatik olarak çıkartıldı.

Elde edilen FTIR spektral haritaları ISYS Chemical Imaging yazılımı (v3.1; Spectral Dimensions, Olney, MD, A.B.D.) yardımıyla detaylı olarak analiz edildi. Spektral haritalardaki spektrumlar öncelikle bir taban çizgisine (baseline) oturtuldu. Daha sonrasında spektral haritalarda bazı bant alan değerleri hesaplandı. Spektral haritada doku sınırları dışında kalan alanları kapsayan kısım maske olarak kodlandı. Hesaplanan alan oranının maskeyle çarpımı sonucu nihai görüntü elde edildi (Şekil 18). Bant alanı hesaplamasında kullanılan spektral aralıklar Tablo 3’de görülmektedir. Spektral haritalardan ISYS yazılımı

yardımıyla çıkarılan spektrumların görsel gösteriminde ise spektrumlar önce onüç noktalı bir fonksiyon ile düzgünleştirildi. Ardından bir taban çizgisine (baseline) oturtularak amid I bandına göre normalize edildi.



Şekil 18. Gerçekleştirilen veri analizin basamakları

Tablo 3. Spektral haritalarda gerçekleştirilen bant alanı hesaplamaları için kullanılan spektral aralıklar.

Kızılötesi soğurma bandı	Kullanılan spektral aralık (cm^{-1})
CH gerilim bölgesi	2996-2900 cm^{-1}
Olefinik ($\text{HC}=\text{CH}$)	3026-2996 cm^{-1}
CH_2 antisimetrik gerilim	2942-2900 cm^{-1}
CH_3 antisimetrik gerilim	2978-2942 cm^{-1}
Amid I	1684-1600 cm^{-1}
Amid II	1575-1515 cm^{-1}
CH_2 bükülme	1483-1424 cm^{-1}
Karbonil ($\text{C}=\text{O}$) gerilim	1750-1720 cm^{-1}
PO_2 antisimetrik gerilim	1267-1189 cm^{-1}
$\text{C}-\text{N}^+-\text{C}$ gerilim	992-944 cm^{-1}

Kesitlerdeki lipit/protein dağılımının görüntülenebilmesi için toplam CH gerilim bölgesi alanı amid I bant alanına ve CH₂ bükülme bant alanı amid I bant alanına oranlanmıştır (Bozkurt ve ark, 2010; Bozkurt ve ark, 2012; Cakmak ve ark, 2012; Turker ve ark, 2014). Gruplarası lipit yapı değişimlerinin belirlenebilmesi için CH₂ antisimetrik gerilim, CH₃ antisimetrik gerilim ve karbonil (C=O) gerilim bant alanları ayrı ayrı toplam CH gerilim bölge alanına oranlanmıştır (Gasper ve ark, 2009; Cakmak ve ark, 2012; Turker ve ark, 2014; Sen ve ark, 2015). Bunların yanı sıra, fosfat içermeyen lipitlerin dağılımı karbonil (C=O) gerilim bant alanının PO₂ antisimetrik gerilim bant alanına oranlanması ile, fosfat içeren lipitlerdeki değişim ise PO₂ antisimetrik gerilim bant alanının CH₂ antisimetrik gerilim bant alanına ve PO₂ antisimetrik gerilim bant alanının CH gerilim bölge alanına oranlanması ile gözlenmiştir (Gasper ve ark, 2009). Lipitlerin zincir uzunluklarındaki değişimin gözlenebilmesi için CH₃ antisimetrik gerilim bant alanı CH₂ antisimetrik gerilim bant alanına oranlanmıştır (Wang ve ark, 2005; Cakmak ve ark, 2012; Sen ve ark, 2015). Ayrıca lipit açıl zincir sayısının dağılımı karbonil (C=O) gerilim bant alanının CH₂ antisimetrik gerilim bant alanına oranlanmasıyla gözlenmiştir (Gasper ve ark, 2009). Doymamış lipit miktarının doymuş lipit miktarına göre dağılımının gözlenebilmesi için olefinik (HC=CH) bant alanı CH₂ antisimetrik gerilim bant alanına oranlanmıştır. Ayrıca olefinik (HC=CH) bant alanı CH gerilim bölgesi alanına oranlanarak doymamış lipit içeriğindeki değişim gözlenmiştir (Gasper ve ark, 2009; Cakmak ve ark, 2011; Cakmak ve ark, 2012; Sen ve ark, 2015). Bunların yanı sıra, protein yapısındaki değişimler amid I bant alanının amid II bant alanına oranlanmasıyla (Ozek ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011; Bozkurt ve ark, 2012), kesitlerdeki lipit oksidasyonu derecesi karbonil ester gerilim ant alanının amid II bant alanına oranlanmasıyla (Palaniappan ve Pramod, 2011), nükleik asit ve protein dağılımındaki değişimler PO₂ antisimetrik gerilim bant alanının amid II bant alanına oranlanmasıyla ve RNA miktarındaki değişim RNA'nın riboz-fosfat ana zincir titreşimlerinden kaynaklanan 972 cm⁻¹'de yer alan bant alanının amid II bant alanına oranlanmasıyla görüntülenmiştir (Bozkurt ve ark, 2010; Ozek ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011; Turker ve ark, 2014). Elde edilen spektral haritalar aynı soğurma derecesinde (scale) çizdirilerek gruplar arasında hesaplanan bu oranlar arasındaki değişimler gözlemlendi ve analiz programının vermiş olduğu histogramlardaki sayısal değerler kullanılarak karşılaştırıldı.

3.4. İstatistiksel Analiz

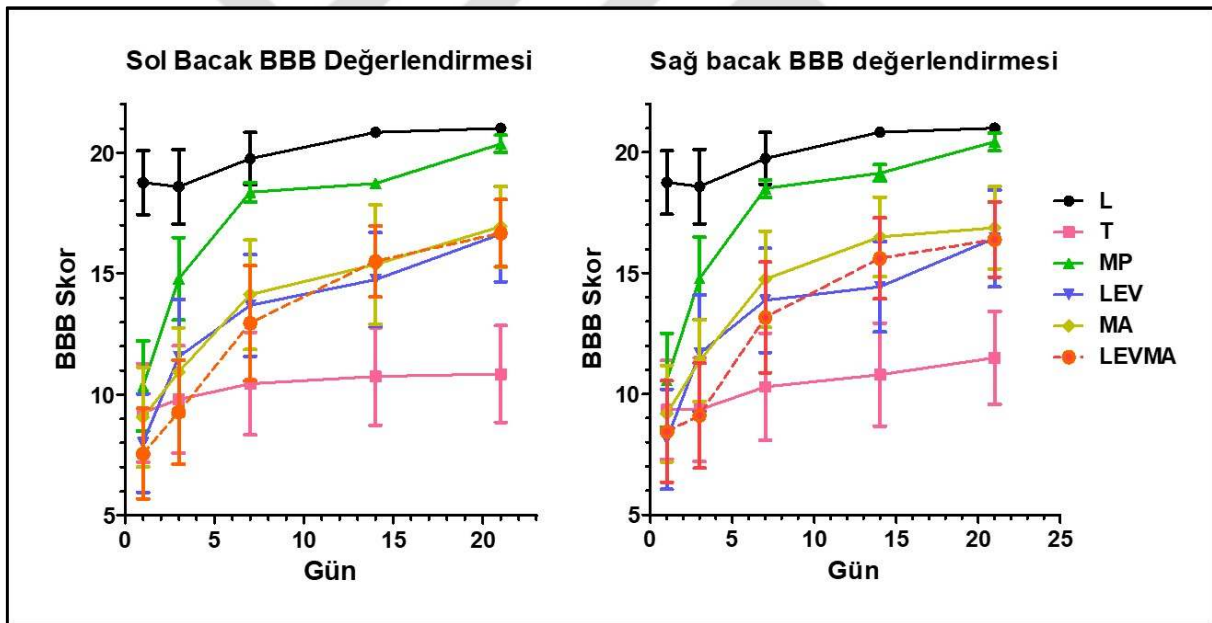
Tüm çalışma gruplarına ait veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki varyans değişimleri ve bu değişimlerin istatistiksel anlamlılığın hesaplanması için Oneway ANOVA yöntemi ve art analiz olarak Tukey's testi kullanılarak tüm gruplar birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Bu karşılaştırılma sırasında istatistiksel anlamlılık laminektomi (L) grubuna göre tespit edilmişse * işareti ile, travma (T) grubuna göre tespit edilmişse † işareti ile, metilprednizolon (MP) grubuna göre tespit edilmişse ‡ işareti ile, manyetik alan (LTMA) grubuna göre tespit edilmişse § işareti ile, levetirasetam (LEV) grubuna göre tespit edilmişse † işareti ile gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ şeklinde gösterilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Davranışsal Fonksiyonel Değişim

Bu çalışmada travmatik yaralanmaya bağlı olarak davranışsal fonksiyonel değişim BBB skorumla kriterleri ile değerlendirilmiştir. Tüm değerlendirmeler, tedavi grupları hakkında bilgi sahibi olmayan, aynı kişi tarafından yapılacak şekilde planlandı. Deneklerin fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi, spinal travma sonrasında 1., 3., 7., 14. ve 21. günlerde yapıldı ve skorlar kaydedildi. Elde edilen sonuçlar Şekil 19’da gösterilmiştir. Travmaya bağlı olarak gelişen davranışsal fonksiyonlardaki değişimin sol ve sağ bacakta ayrı ayrı olmak üzere puanlandırılarak günlere göre gruplar arası karşılaştırması yapılmış ve Tablo 4’ verilmiştir.



Şekil 19. Sağ ve sol bacağına ait BBB skorlarının günlere göre değişimini gösteren grafik.

İstatistiksel anlamlılık laminektomi (L) grubuna göre tespit edilmişse * işareti ile, travma (T) grubuna göre tespit edilmişse † işareti ile, metilprednizolon (MP) grubuna göre tespit edilmişse ‡ işareti ile, manyetik alan (LTMA) grubuna göre tespit edilmişse § işareti ile, levitirasetam (LEV) grubuna göre tespit edilmişse † işareti ile gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ şeklinde gösterilmiştir.

Tablo 4. Sağ ve sol bacadan alınan fonksiyonel değişim sonuçlarının günlere göre değişimi.

Günler	Çalışma Grupları					
	L	T	MP	LEV	MA	LEVMA
Sol Bacak						
1. Gün	18,75±1,31	9,25±2,03**	10,36±1,86*	8,00±2,04**	9,06±2,07**	7,56±1,87***
3. Gün	18,58±1,54	9,80±2,21*	14,79±1,70	11,56±2,37	10,94±1,82	9,28±2,14*
7. Gün	19,75±1,07	10,45±2,12**	18,36±0,40	13,69±2,09	14,13±2,26	12,94±2,38
14. Gün	20,83±0,11	10,75±2,02***	18,71±0,18†	14,75±1,94	15,38±2,46	15,50±1,46
21. Gün	21,00±0,00	10,85±2,00***	20,36±0,36†††	16,63±1,96	16,94±1,66†	16,67±1,39
Sağ Bacak						
1. Gün	18,75±1,34	9,35±2,05**	10,57±1,94*	8,13±2,07**	9,19±2,00**	8,44±2,10**
3. Gün	18,58±1,54	9,35±2,14**	14,79±1,70**	11,69±2,41*	11,38±1,68	9,11±2,17**
7. Gün	19,75±1,07	10,30±2,21**	18,50±0,36†	13,88±2,15	14,75±2,00	13,16±2,29
14. Gün	20,83±0,11	10,80±2,13***	19,14±0,34††	14,44±1,87*	16,5±1,65	15,61±1,67
21. Gün	21,00±0,00	11,50±1,93***	20,43±0,37††	16,44±2,01	16,88±1,70	16,39±1,55

Veriler ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık laminektomi (L) grubuna göre tespit edilmiş * işareti ile, travma (T) grubuna göre tespit edilmiş † işareti ile, metilprednizolon (MP) grubuna göre tespit edilmiş ‡ işareti ile, manyetik alan (LTMA) grubuna göre tespit edilmiş § işareti ile, levetirasetam (LEV) grubuna göre tespit edilmiş † işareti ile gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 şeklinde gösterilmiştir.

Yapılan BBB değerlendirmesinde travmayı takiben 1. Gün BBB değerlendirmesinde sol bacak için travma (T) (p<0,01), metilprednizolon (MP) (p<0,05), levetirasetam (LEV) (p<0,01), manyetik alan (MA) (p<0,01), ve levetirasetam ile kombine manyetik alan (LEVMA) (p<0,001) gruplarının tümünde laminektomi (L) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Sağ bacak için 1. Gün gruplararası değerlendirme sonuçlarına göre; travma (T) (p<0,01), metilprednizolon (MP) (p<0,05), levetirasetam (LEV) (p<0,01), manyetik alan (MA) (p<0,01), ve levetirasetam ile kombine manyetik alan (LEVMA) (p<0,01) gruplarının tümünde laminektomi (L) grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edilmiştir.

3. Gün gerçekleştirilen BBB değerlendirme sonuçlarına göre sol bacak için travma (T) (p<0,05) ve levetirasetam ile kombine manyetik alan (LEVMA) (p<0,05) gruplarında laminektomi (L) grubuna göre anlamlı bir fark tespit edilmiş olup diğer gruplardaki sayısal farklılık anlamlı bulunmamıştır. 3. Gün gerçekleştirilen BBB değerlendirme sonuçlarına göre sağ bacak için travma (T) (p<0,01), metilprednizolon (MP) (p<0,01), levetirasetam (LEV) (p<0,05) ve levetirasetam ile kombine manyetik alan (LEVMA) (p<0,01) gruplarında

laminektomi (L) grubuna göre değerlendirildiğinde anlamlı bir fark tespit edilmiş olup diğer gruplardaki sayısal farklılık anlamlı bulunmamıştır.

7. Gün gerçekleştirilen BBB değerlendirme sonuçlarına göre sol bacak için travma (T) grubu için istatistiksel anlamlılık laminektomi (L) grubuna göre tespit edilmiştir ($p<0,01$). Diğer gruplarda anlamlı farklar görülmemiştir. 7. Gün gerçekleştirilen sağ bacak için BBB değerlendirme sonuçlarına göre travma (T) ve laminektomi (L) grubu arasında ($p<0,01$) ve metilprednizolon (MP) ile travma (T) grubu arasında anlamlı bir farklar tespit edilmiştir ($p<0,05$) Diğer gruplar için ortaya çıkan sayısal farklar anlamlı bulunmamıştır.

14. Gün gerçekleştirilen BBB değerlendirme sonuçlarında sol bacak için travma (T) grubunda ($p<0,001$) laminektomi (L) grubuna göre ve metilprednizolon (MP) ($p<0,05$) tedavi grubunda travma (T) grubuna göre anlamlı farklar elde edilirken, diğer gruplardaki sayısal farklılıklar anlamlı bulunmamıştır. 14. Gün gerçekleştirilen BBB değerlendirme sonuçlarında sağ bacak için travma (T) ($p<0,001$) ve levetirasetam tedavi (LEV) ($p<0,05$) gruplarında laminektomi (L) grubuna göre ve metilprednizolon (MP) ($p<0,01$) tedavi grubunda travma (T) grubuna göre değerlendirildiğinde anlamlı farklar elde edilirken, diğer gruplardaki sayısal farklılıklar anlamlı bulunmamıştır.

Travmayı takiben 21. Günde gerçekleştirilen BBB değerlendirmesine göre sol bacak için travma (T) ($p<0,001$) laminektomi (L) grubuna göre ve metilprednizolon (MP) ($p<0,001$) ile manyetik alan (MA) ($p<0,05$) tedavi gruplarına ait değerler ile travma (T) grubu arasındaki farklar anlamlı bulunmuştur. Diğer gruplar arasındaki sayısal değer farklılıkları anlamlı değildir. 21. Gün gerçekleştirilen BBB değerlendirme sonuçlarında sağ bacak için travma (T) ($p<0,001$) grubu laminektomi (L) grubuna göre ve metilprednizolon (MP) ($p<0,01$) tedavi grubunda travma (T) grubuna göre değerlendirildiğinde anlamlı farklar elde edilirken, diğer gruplardaki sayısal farklılıklar anlamlı bulunmamıştır.

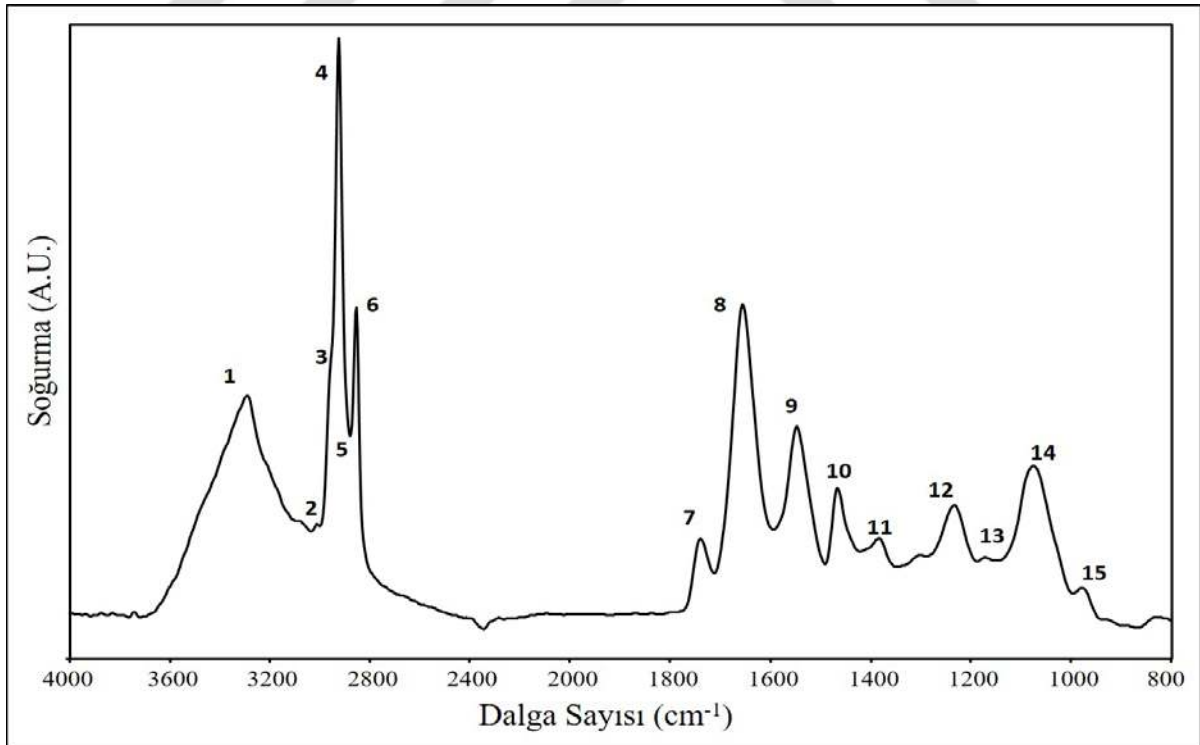
4.2. FTIR Mikrospektroskopik Görüntüleme İncelemeleri

Bu çalışmada, travmatik yaralanmaya bağlı olarak spinal kord dokusu makromoleküler bileşenlerinde meydana gelen yapısal ve fonksiyonel değişimlerin tespitinin sağlanması ayrıca manyetik alan, levetirasetam ve manyetik alan ile birlikte uygulanan levetirasetam tedavisinin spinal kord dokusunda travmanın yol açtığı hasar üzerindeki tedavi edici etkilerini gözlemek amacıyla Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) mikroskopik görüntüleme incelemeleri yapılmıştır.

Bu yöntem, örnek kesitinin istenilen IR dedektör piksel boyutu ile taranmasını ve kesite ait spektral haritaların (kimyasal haritalar) toplanmasına olanak verir. Bu spektral haritaların her bir pikselinde bir FTIR spektrumu yer almaktadır.

4.2.1. Spinal Kord Doku FTIR Spektrumu ve Bant Tanımları

Örnek içerisinde bulunan makromoleküllere ait farklı fonksiyonel gruplar FTIR spektrumunda farklı dalga sayısı değerlerinde karakteristik soğurma bantları oluşturmaktadır (Mantsch, 1984; Diem ve ark, 1999; Çakmak ve ark, 2006; Ozek ve ark, 20010; Bozkurt ve ark, 2010;). Şekil 20’de FTIR mikrospektroskopik görüntüleme çalışmaları sonucu laminektomi grubuna ait elde edilen spektral haritadan çıkarılan örnek bir spinal kord spektrumu görülmektedir. Şekilde görüldüğü gibi spinal kord spektrumunda doku makromoleküllerinde bulunan farklı fonksiyonel gruplara ait pek çok bant bulunmaktadır. Şekildeki spinal kord spektrumu üzerinde işaretlenmiş olan bant tanımları Tablo 5’de verilmiştir.



Şekil 20. Laminektomi grubu spektral haritalarından çıkarılmış olan 4000-800 cm⁻¹ frekans aralığındaki örnek spinal kord spektrumu

Tablo 5. Spinal kord dokusunun 4000-800 cm^{-1} bölgesindeki başlıca kızılötesi spektrumu soğurulma bantları ve bu bantların literatüre göre belirlenen bant tanımları

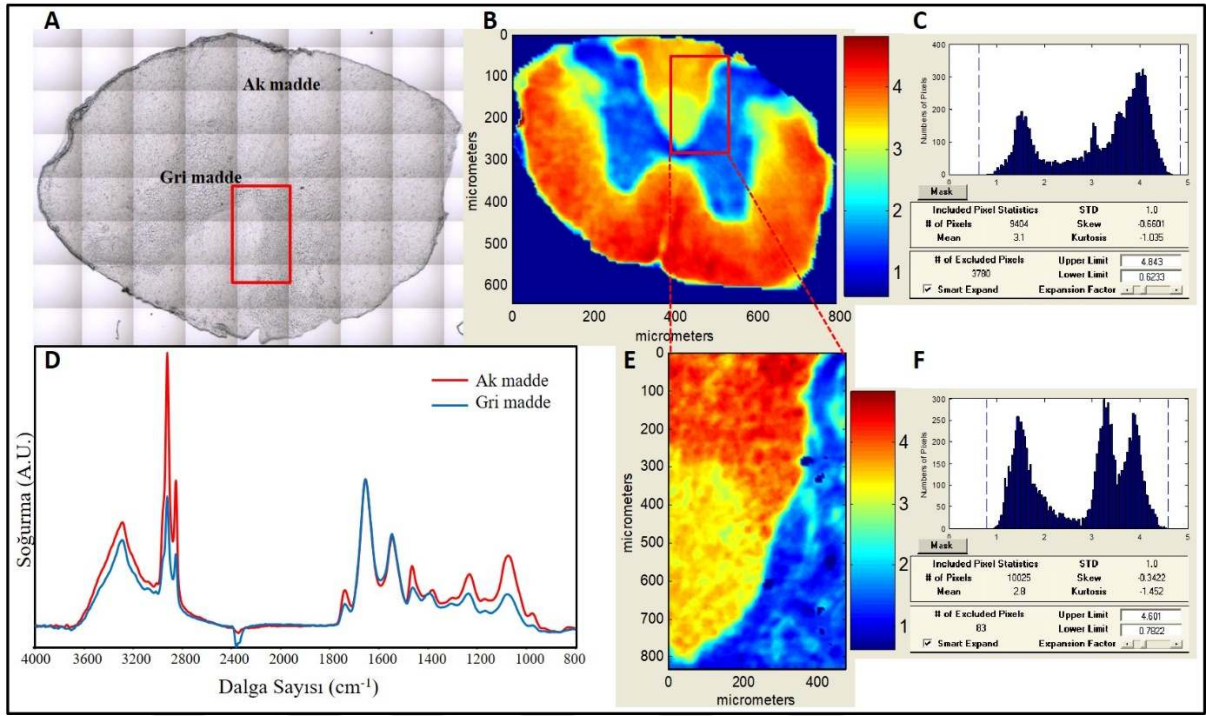
Bant No	Dalga Sayısı (cm^{-1})	Tanım
1	3067	Amid A: Çoğunlukla proteinlerin N-H gerilimleri, az miktarda polisakkaritlerin O-H gerilimleri ve intermoleküler H bağı (Cakmak ve ark, 2003; Cakmak ve ark, 2006; Severcan ve ark, 2008)
2	3012	Olefinik =CH : Doymamış lipitler (Severcan ve ark, 2005)
3	2952	CH₃ antisimetrik gerilim: Lipitler ve protein yan zincirleri (Szalontai, 2009; Severcan ve ark, 2010)
4	2921	CH₂ antisimetrik gerilim: Çoğunlukla lipitler (Cakmak ve ark, 2006; Severcan ve ark, 2010)
5	2873	CH₃ simetrik gerilim: Çoğunlukla proteinler (Cakmak ve ark, 2006; Severcan ve ark, 2010)
6	2851	CH₂ simetrik gerilim: Çoğunlukla lipitler (Cakmak ve ark, 2006)
7	1738	Ester C=O gerilim: Lipit kolesterol ester grupları (Kneipp ve ark, 2000; Nara ve ark, 2002)
8	1652	Amid I: Protein, %80 C=O gerilim, %10 N-H bükülme, %10 C-N gerilim (Haris ve Severcan, 1999)
9	1545	Amid II: Protein, %60 N-H bükülme, %40 C-N gerilim (Haris ve Severcan, 1999)
10	1465	CH₂ bükülme: Çoğunlukla lipitler (Cakmak ve ark, 2006; Ozek ve ark, 2010)
11	1400	COO- simetrik gerilim: Yağ asitleri ve protein yan zincirleri (Cakmak ve ark, 2006)
12	1233	PO₂- antisimetrik gerilim, hidrojen bağı: Çoğunlukla nükleik asitler, az miktarda fosfolipitler (Ozek ve ark, 2010)
13	1168	CO-O-C antisimetrik gerilim: Kolesterol esterlerin ester bağları (Stuart , 2004)
14	1073	PO₂- simetrik gerilim: Çoğunlukla nükleik asitler ve az miktarda fosfolipitler (Akkaş ve ark, 2007)
15	972	C-N⁺-C gerilim: Nükleik asitler, RNA'nın riboz-fosfat ana zincir titreşimleri

4.2.2. FTIR Mikrospektroskopik Görüntüleme Yöntemi ile Elde Edilen Spektral Haritalar

FTIR mikrospektroskopik görüntüleme sistemi inceleme yapılacak doku içindeki ilgili alanlarının seçimi için kesitin görünür görüntüsünün ve bu görüntü üzerinden seçilen alanların spektral haritalarını toplamayı sağlar. Bu spektral haritalar, her pikseldeki bir spektrumdan

oluşan renk kodlu görüntüler olarak temsil edilir. Spektral haritalar, ilgi alanı boyunca belli bir fonksiyonel gruba ait soğurma bandının yoğunluğundaki mekansal dalgalanmaları temsil eder. FTIR mikrospektroskopik görüntüleme incelemeleri toplanan spektral haritaların analizi ile absorpsiyon bantlarındaki farklılıklara dayalı karşılaştırmalı bir değerlendirme yapmayı mümkün kılmaktadır (Cakmak ve ark, 2012; Bozkurt ve ark, 2016).

Şekil 21’de laminektomi grubuna ait bir spinal kord kesitinden FTIR mikrospektroskopik görüntüleme sistemi ile elde edilmiş olan örnek görüntüler ve spektrumlar görülmektedir. Şekil 21A’da FTIR mikroskobunun ışık mikroskobu fonksiyonu ile elde edilmiş spinal kord kesit görüntüsü ve Şekil 21B’de aynı kesite ait 25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu ile elde edilmiş ve lipid/protein oranının dağılımını gösteren spektral harita, Şekil 21C’de ise bu spektral haritada lipid/protein oranının dağılımını gösteren histogram görülmektedir. Şekil 21D’de spinal kord kesitinin ak ve gri madde bölgelerinden çıkarılmış olan örnek ak ve gri madde spektrumları görülmektedir. Şekil 21E’de şekilde hem (A) hem (B) üzerinde işaretli bölgeden daha yüksek çözünürlüklü 6,25x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu ile elde edilmiş lipid/protein oranının dağılımını gösteren spektral harita ve Şekil 21F’de bu haritaya ait histogram görülmektedir.

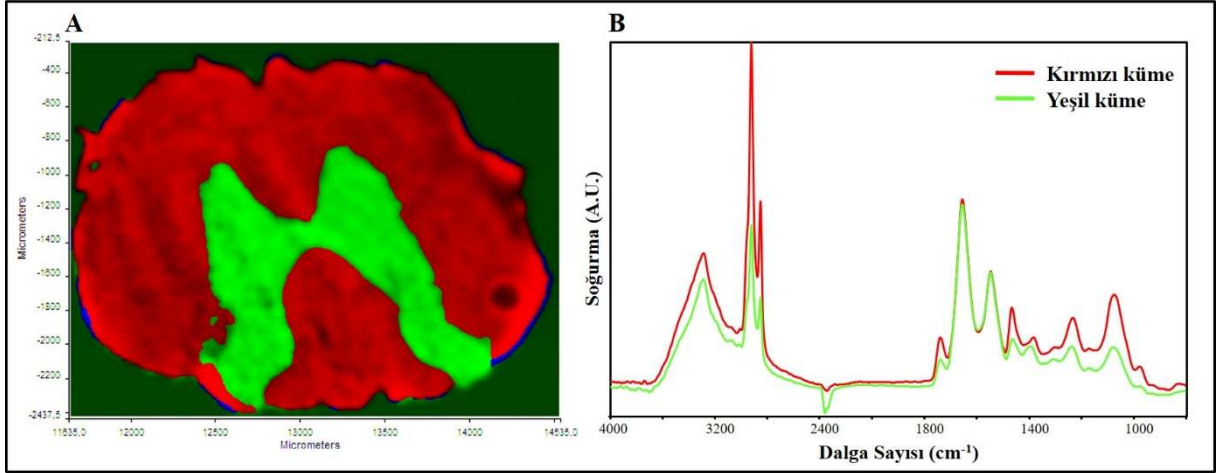


Şekil 21. Laminektomi grubuna ait bir spinal kord kesitinde FTIR mikroskobunun ışık mikroskobu fonksiyonu ile elde edilmiş örnek spinal kord kesit görüntüsü (A), aynı kesitin lipid/protein oranını gösteren (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu ile taranması sonucu elde edilmiş) spektral harita (B), (B)'deki spektral haritaya ait histogram (C), (B)'deki spektral haritadan ak ve gri madde bölgelerinden çıkarılmış örnek ak ve gri madde spektrumları (D), hem (A) hem (B) üzerinde işaretli bölgeden daha yüksek çözünürlüklü 6,25x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu ile toplanmış ve lipid/protein oranını gösteren spektral harita (E), ve (E)'deki spektral haritaya ait histogram (F)

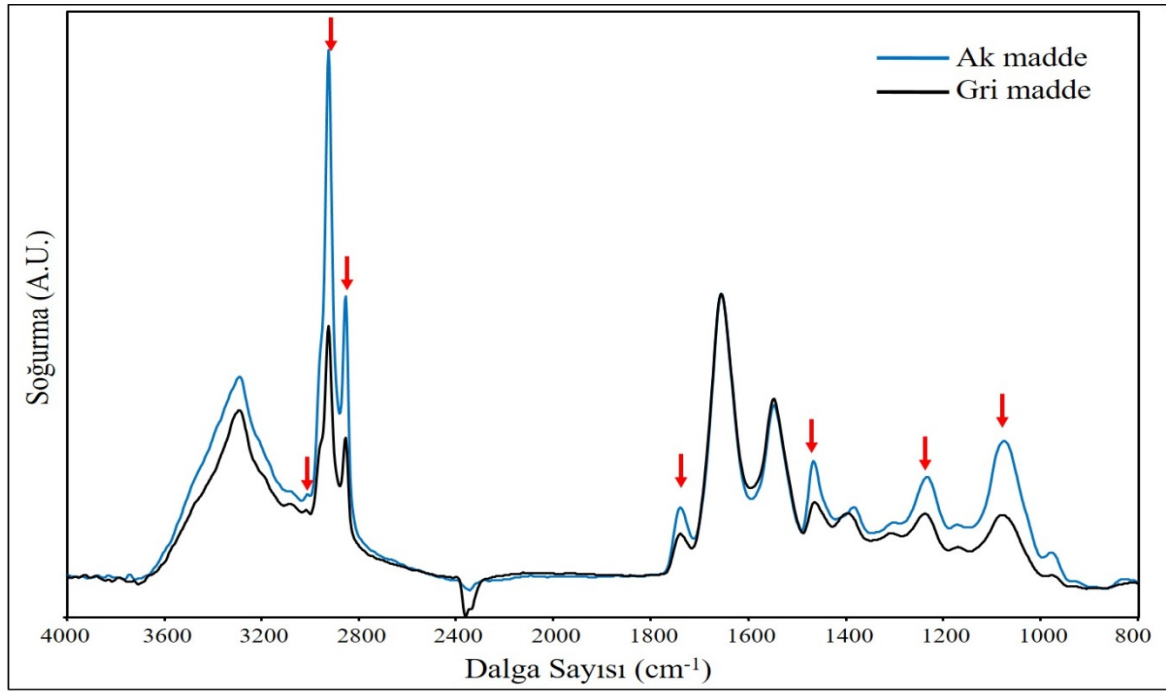
Şekil 21'de görülebildiği gibi spinal kord içerisindeki ak ve gri madde içeren bölümler spektral farklılıklarına göre kolaylıkla ayırt edilebilmektedir. FTIR mikrospektroskopik görüntüler kesit içerisinde yer alan moleküllerin içeriksel dağılımlarını göstermektedirler. Her doku farklı bir kimyasal kompozisyona sahip olduğundan dolayı FTIR spektral haritaları dokunun histolojik yapısı ile eşleşmektedir (Kneipp ve ark, 2002; Cakmak ve ark, 2012).

Toplanan spektral haritalar üzerinde Spotlight analiz programı yardımı ile toplam soğurma haritasındaki spektral farklılıklar kullanılarak yapılan ve yapısal farklılıkları görmeye yönelik başlıca bileşen (PCA) kümeleme analizinin sonuçları Şekil 22'de görülmektedir. Bu analiz sonucunda incelenen spinal kord kesitleri içerisinde temel olarak iki farklı bölge, kırmızı ve yeşil küme olduğu görülebilmektedir. Bu bölgeler spinal kord

yapısında bulunan ak ve gri madde bölümleridir, spinal kordda ak madde dışta, gri madde ise içte yer alır. Ak madde yapısı içerisinde lipit kaynaklı bantların, özellikle 2921, 2951 ve 1465 cm^{-1} 'de görülen CH_2 soğurma bantları, 1739 cm^{-1} 'de görülen karbonil ester soğurma bandı ile 1233 ve 1073 cm^{-1} 'de görülen fosfat soğurma bantlarının daha belirgin olduğu spektral haritalardan çıkarılan spektrumlara bakıldığında da görülebilmektedir (Şekil 23).



Şekil 22. Laminektomi grubuna ait spinal kord kesitinden elde edilen bir toplam soğurma spektral haritası kullanılarak gerçekleştirilen yapısal farklılıkları çözmeye yönelik kümeleme analizi sonucu elde edilen farklı bölgeleri gösteren harita (A), bu haritadaki farklı bölgelerden çıkarılmış olan spektrumlar (B). Yeşil spektrum A’da tespit edilen yeşil bölgeden, kırmızı spektrum ise kırmızı bölgeden çıkarılmıştır.



Şekil 23. Spinal kord kesitlerinden elde edilen ak ve gri madde bölgelerine ait 4000-800 cm^{-1} frekans aralığındaki örnek FTIR spektrumları. Spektrumlar 1700-1600 cm^{-1} frekans aralığında yer alan amid I bandına göre normalize edilmiştir. Şekil üzerinde lipid kaynaklı bantlar kırmızı ok ile işaretlenmiştir.

4.2.2. Spinal Kord Doku FTIR Spektral Haritalarının Analizi

FTIR spektroskopisi ve mikrospektroskopik görüntülemesinde elde edilen spektrumlarda yer alan bantlarının sinyal şiddetleri veya bu bantların altında kalan alanlar, söz konusu fonksiyonel grubun konsantrasyonu hakkında bilgi vermektedir (Freifelder, 1982; Takahashi ve ark, 1991; Liu ve ark, 2002; Cakmak ve ark, 2006; Bozkurt ve ark, 2010; Bozkurt ve ark, 2012; Sen ve ark, 2015). Bu nedenle, öncelikle Tablo 3'te gösterilen spektral aralıklar kullanılarak bazı bant alanları hesaplanmıştır. Fakat, spinal kord örneklerine ait kesitlerde, kesit kalınlığındaki değişimlerden etkilenmeden doğru bir değerlendirme yapılabilmesi için FTIR spektral haritalarının değerlendirilmesinde bant alan oranları kullanılmıştır. Literatüre göre belirlenen ve hesaplanan bant alan oranları ve açıklamaları Tablo 6'de verilmektedir. Özetle, tüm çalışma gruplarına ait spektral haritalarda lipid/protein içeriğinin dağılımındaki değişimler, lipidlerin içerisindeki doymamış lipid, metil, etil ve karbonil gruplarının dağılımlarındaki değişimler, fosfat içeren ve içermeyen lipidlerin

dağılımındaki değişimler, doymamış lipit içeriğinin doymuş lipit içeriğine oranının dağılımındaki değişimler, lipitlerin oksidasyon derecesindeki değişimler, lipit hidrokarbon zincir uzunluğu ve sayısının dağılımdaki değişimler ile protein ve nükleik asit yapısındaki değişimler incelenmiştir.

Tüm çalışma gruplarına ait spinal kord kesitlerinden 25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu kullanılarak elde edilen spektral haritalardan hesaplanan bazı bant alan oranlarının değerleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Ayrıca bu bant oranlarına ait 25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu ile toplanan spektral haritalardaki değişimler Şekil 24-31’de gösterilmektedir.

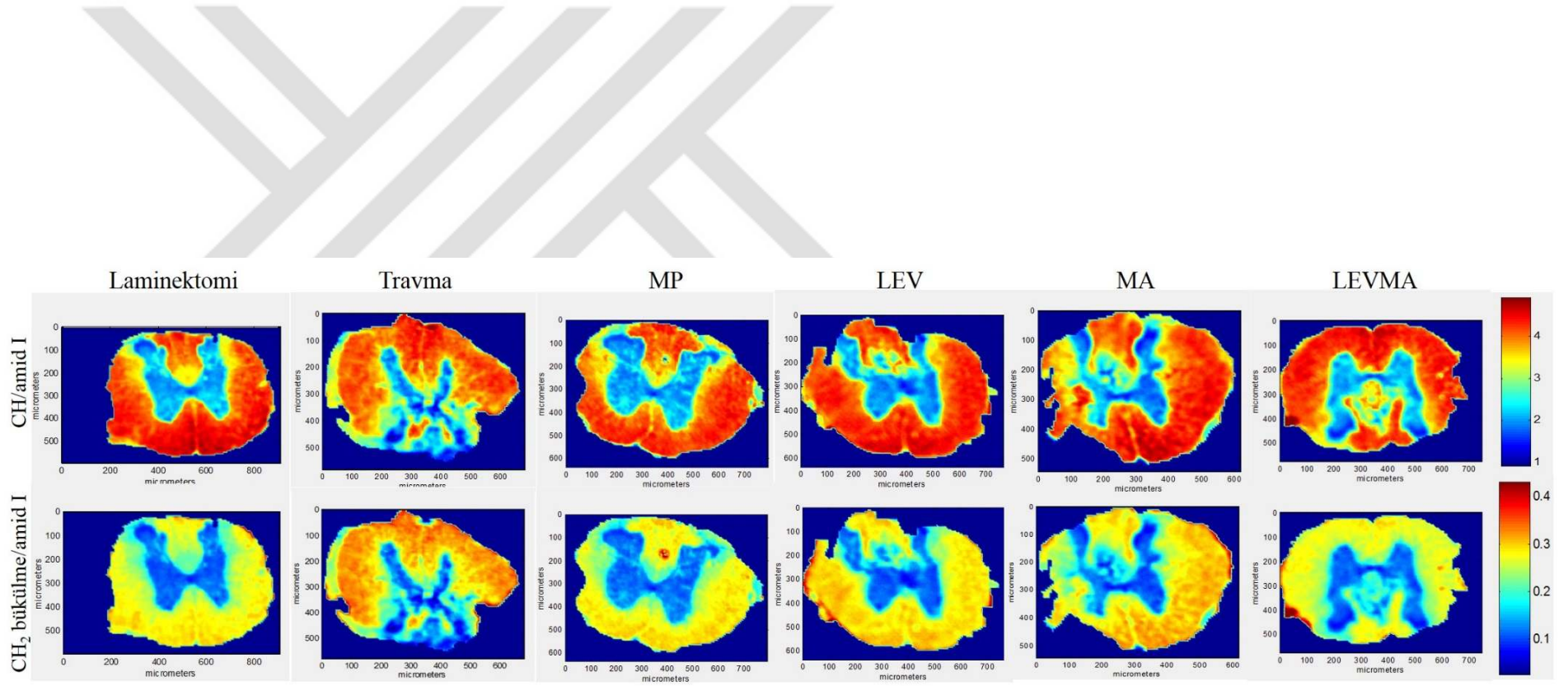
Tablo 6. Spektral haritalarda görüntülenen ve hesaplanan bant alan oranları (Gasper ve ark, 2009; Acerbo ve Miller, 2009; Bozkurt ve ark, 2010; Antoine ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011; Palaniappan ve Pramod, 2011; Bozkurt ve ark, 2012; Turker ve ark, 2014)

Hesaplanan bant alan oranı	Açıklama
Lipit/protein	CH gerilim bölge alanı/amid I bant alanı
Lipit/protein	CH ₂ bükülme bant alanı/amid I bant alanı
Lipit içeriğindeki etil grubu miktarı	CH ₂ antisimetrik gerilim bant alanı/CH gerilim bölge alanı
Lipit içeriğindeki metil grubu miktarı	CH ₃ antisimetrik gerilim bant alanı/CH gerilim bölge alanı
Lipit içeriğindeki karbonil grubu miktarı	Karbonil (C=O) gerilim bant alanı/CH gerilim bölge alanı
Doymamış lipit içeriğinin doymuş lipit içeriğine oranı	Olefinik (HC=CH) bant alanı/CH ₂ antisimetrik gerilim bant alanı
Doymamış lipit içeriğindeki değişim	Olefinik (HC=CH) bant alanı/CH gerilim bölge alanı
Lipit hidrokarbon zincir uzunluğu	CH ₃ antisimetrik gerilim bant alanı/CH ₂ antisimetrik gerilim bant alanı
Ester grubu içeren lipitler	Karbonil (C=O) gerilim bant alanı/CH ₂ antisimetrik gerilim bant alanı
Lipit yıkım derecesi	Karbonil (C=O) gerilim bant alanı/Amid II bant alanı
Fosfat grubu içermeyen lipitler	Karbonil (C=O) gerilim bant alanı/PO ₂ antisimetrik gerilim bant alanı
Fosfat grubu içeren lipitler	PO ₂ antisimetrik gerilim bant alanı/CH gerilim bölge alanı
Fosfat grubu içeren lipitler	PO ₂ antisimetrik gerilim bant alanı/CH ₂ antisimetrik gerilim bant alanı
Protein yapısındaki değişim	Amid I bant alanı/amid II bant alanı
Nükleik asitlerdeki değişim	PO ₂ antisimetrik gerilim bant alanı/amid II bant alanı
Nükleik asitlerdeki değişim	C-N ⁺ -C gerilim bant alanı/amid II bant alanı

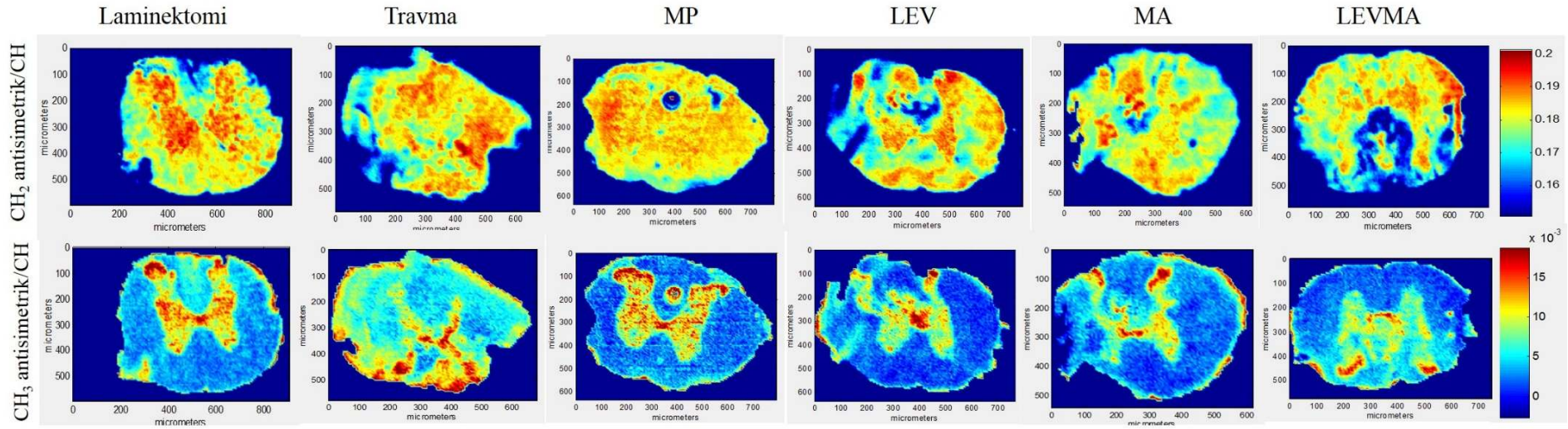
Tablo 7. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerinden 25 x 25 µm IR piksel boyutu ile toplanmış FTIR mikrospektroskopik haritalarında bazı bant alan oranlarındaki değişimler.

BANT ALANLARI ORANLARI	L	T	MP	LEV	MA	LEVMA
CH ger./Amid I (Lipit/Protein)	2,943±0,072	3,163±0,060	3,214±0,063	3,186±0,067	3,100±0,100	3,300±0,050*
CH ₂ бүк./Amid I (Lipit/Protein)	0,180±0,027	0,225±0,003	0,223±0,003	0,227±0,004	0,220±0,007	0,233±0,002*
CH ₂ antis. ger./CH ger. (Lipitlerdeki metilen içeriği)	0,183±0,002	0,176±0,004	0,182±0,002	0,176±0,002	0,179±0,001	0,178±0,003
CH ₃ antis. ger./CH ger. (Lipitlerdeki metil içeriği)	0,009±0,001	0,009±0,003	0,008±0,005	0,009±0,0002	0,009±0,0004	0,008±0,001
C=O ger./CH ger. (Lipitlerdeki karbonil içeriği)	0,015±0,0002	0,015±0,0003	0,015±0,0003	0,015±0,0003*	0,015±0,0002	0,015±0,001
Olefinic=CH/CH ger.	0,002±0,0004	0,002±0,0003	0,002±0,0003	0,002±0,0003	0,002±0,0001	0,002±0,0001
Olefinic=CH/CH ₂ antis. ger. (Doymamış/doymuş lipit)	0,010±0,003	0,009±0,002	0,012±0,001	0,012±0,0005	0,010±0,002	0,011±0,001
CH ₃ antis. ger./CH ₂ antis. ger. (Lipit zincir uzunluğu)	0,047±0,002	0,050±0,002	0,046±0,002	0,052±0,001	0,051±0,001	0,046±0,003
C=O ger./CH ₂ antis. ger. (Ester içeren lipit miktarı)	0,083±0,002	0,076±0,010	0,081±0,002	0,082±0,001	0,081±0,001	0,083±0,002
C=O ger./Amid II (Lipitlerdeki yıkım derecesi)	0,170±0,003	0,182±0,004	0,181±0,004	0,179±0,003	0,179±0,006	0,168±0,024
C=O ger./PO ₂ antis. ger. (Fosfat içermeyen lipitler)	0,186±0,001	0,184±0,003	0,182±0,002	0,177±0,002	0,183±0,004	0,188±0,002†
PO ₂ antis. ger./CH ger. (Fosfat içeren lipitler)	0,084±0,0007	0,084±0,001	0,082±0,001	0,083±0,001	0,082±0,001	0,081±0,001
PO ₂ antis. ger./CH ₂ antis. ger. (Fosfat içeren lipitler)	0,456±0,006	0,468±0,016	0,450±0,011	0,479±0,008	0,475±0,009	0,446±0,009
Amid I/Amid II (Protein yapısındaki değişim)	3,814±0,014	3,863±0,018	3,871±0,029	3,886±0,014	3,900±0,027	3,850±0,033
PO ₂ antis. ger./Amid II (Nükleik asitlerdeki değişim)	0,914±0,017	0,977±0,014	0,986±0,013	1,009±0,025*	0,962±0,030	1,008±0,014*
C-N ⁺ -C ger./Amid II (Nükleik asitlerdeki değişim)	0,155±0,005	0,160±0,011	0,169±0,004	0,173±0,004	0,168±0,006	0,164±0,014

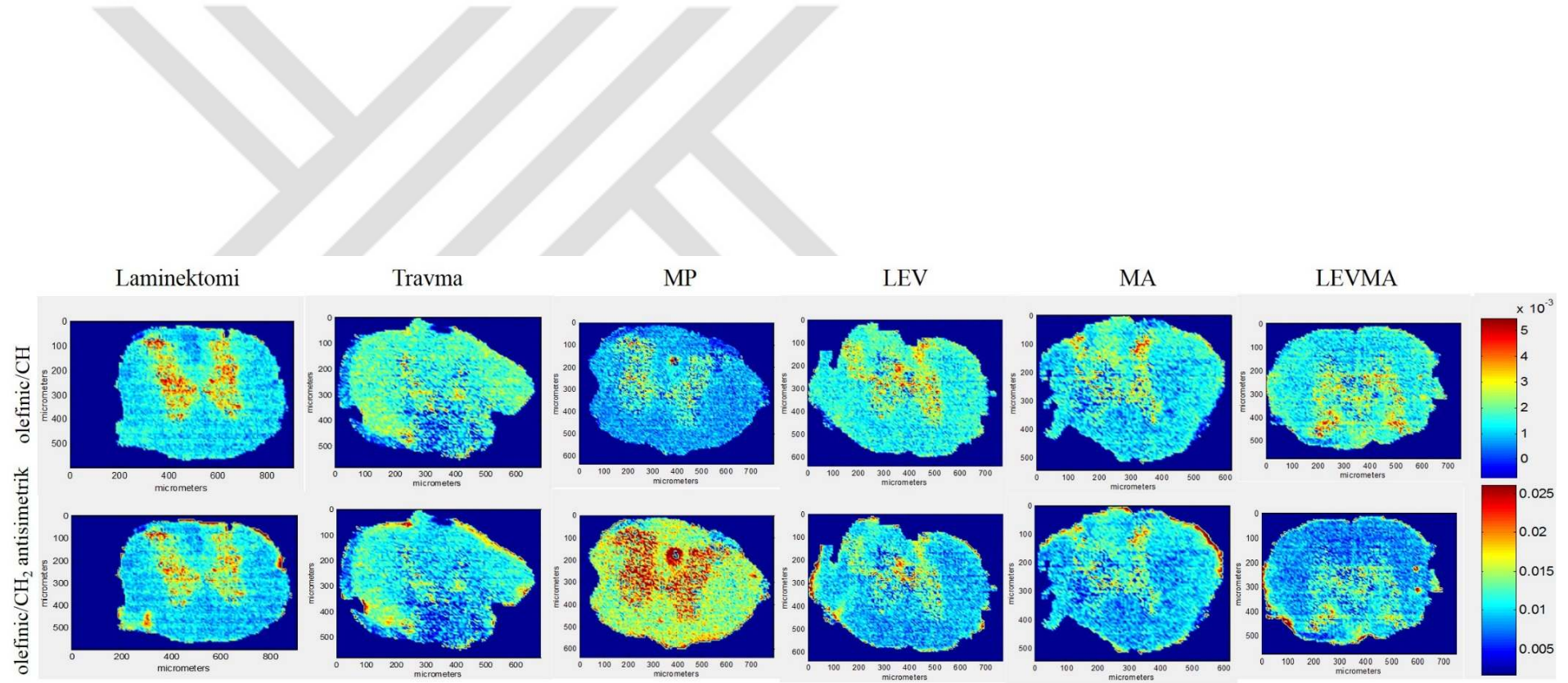
Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık laminektomi (L) grubuna göre tespit edilmişse * işareti ile, travma (T) grubuna göre tespit edilmişse † işareti ile, metilprednizolon (MP) grubuna göre tespit edilmişse ‡ işareti ile, manyetik alan (MA) grubuna göre tespit edilmişse § işareti ile, levetirasetam (LEV) grubuna göre tespit edilmişse † işareti ile gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 şeklinde gösterilmiştir.



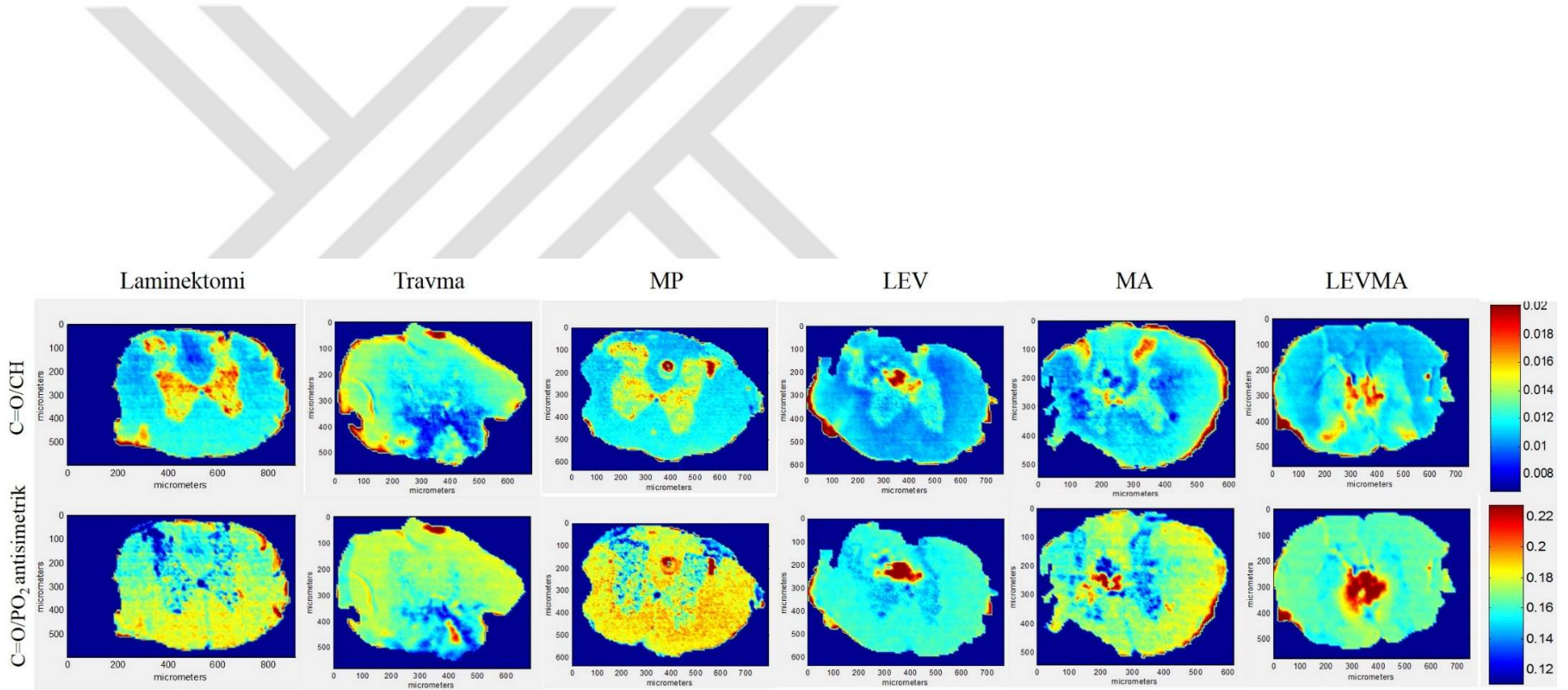
Şekil 24. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipid/protein değerinin değişimlerini gösteren CH gerilim/amid I ve CH₂ bükülme/amid I alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).



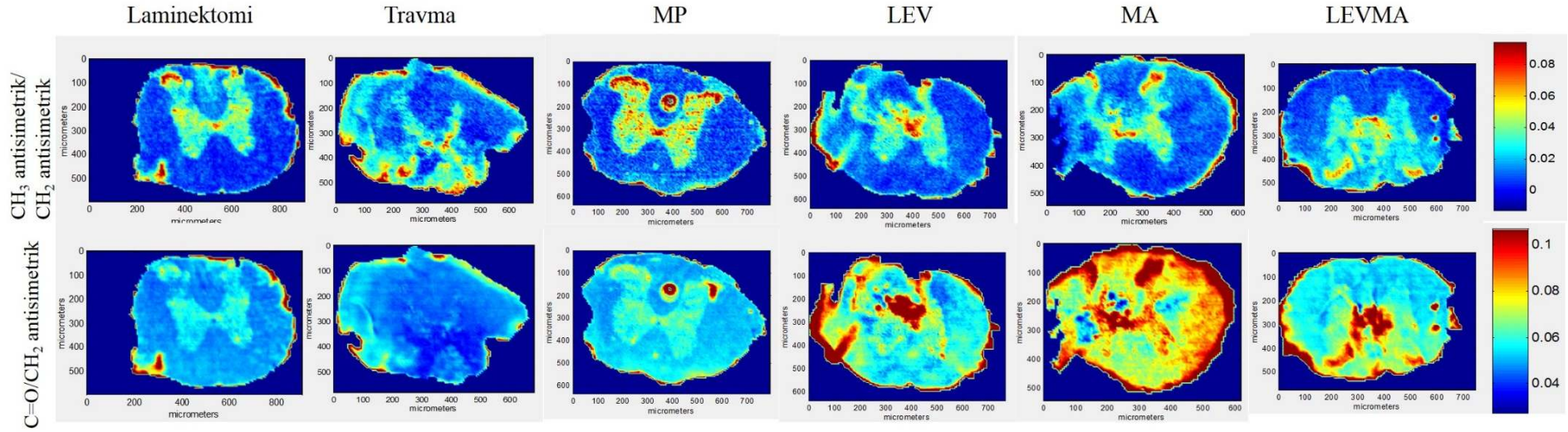
Şekil 25. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki etil grup miktarını gösteren CH_2 antisimetrik gerilim/CH gerilim ve lipidlerdeki metil grup miktarını gösteren CH_3 antisimetrik gerilim/CH gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 μm IR dedektör piksel boyutu).



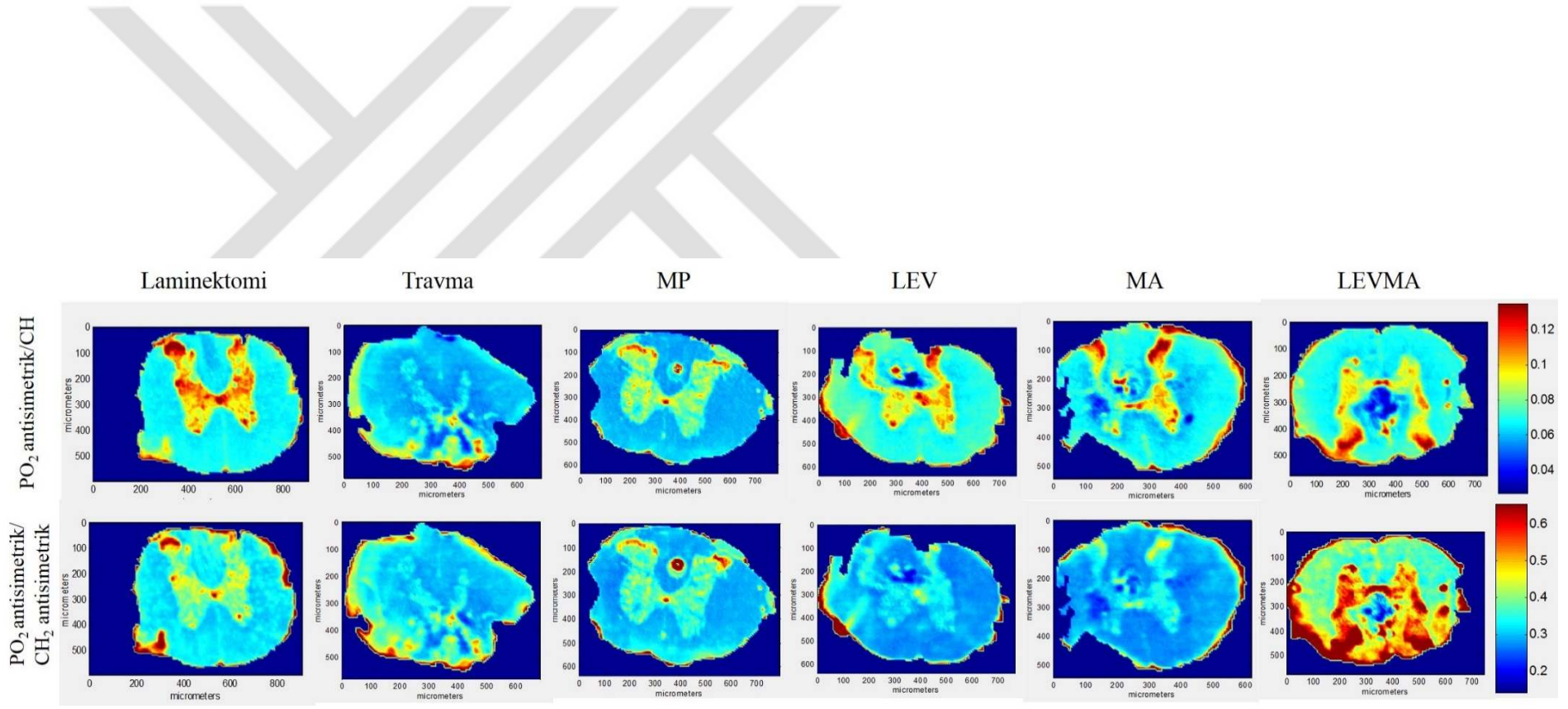
Şekil 26. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki doymamış lipid miktarını gösteren olefinik/CH gerilim ve doymamış-doymuş lipid oranını gösteren olefinik/CH₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).



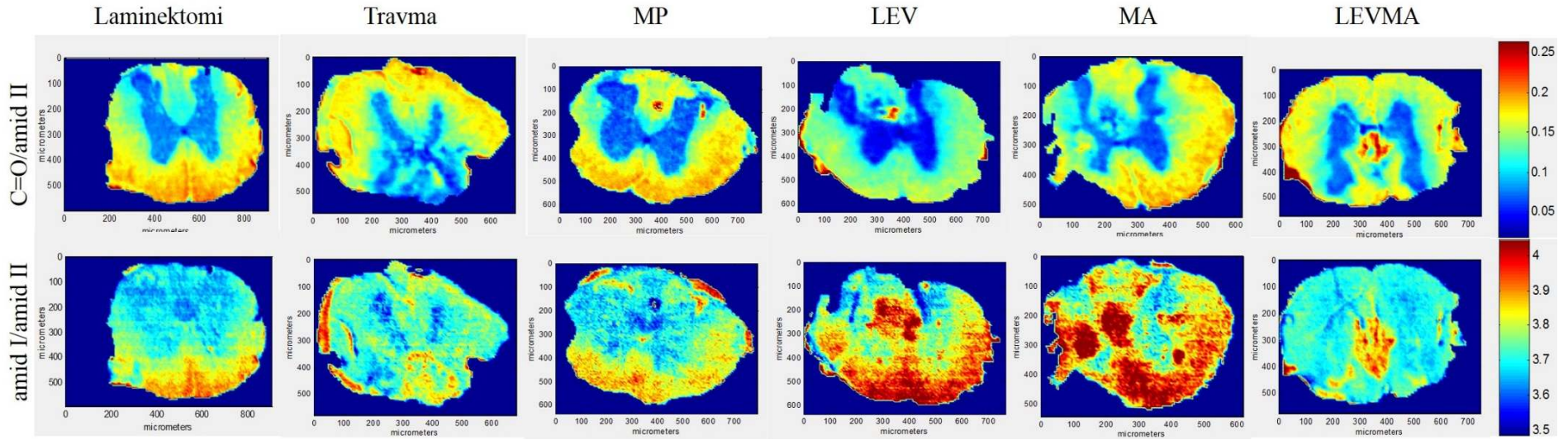
Şekil 27. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki karbonil miktarını gösteren C=O ester/CH gerilim ve fosfat grubu içermeyen lipid içeriğini gösteren C=O ester/PO₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).



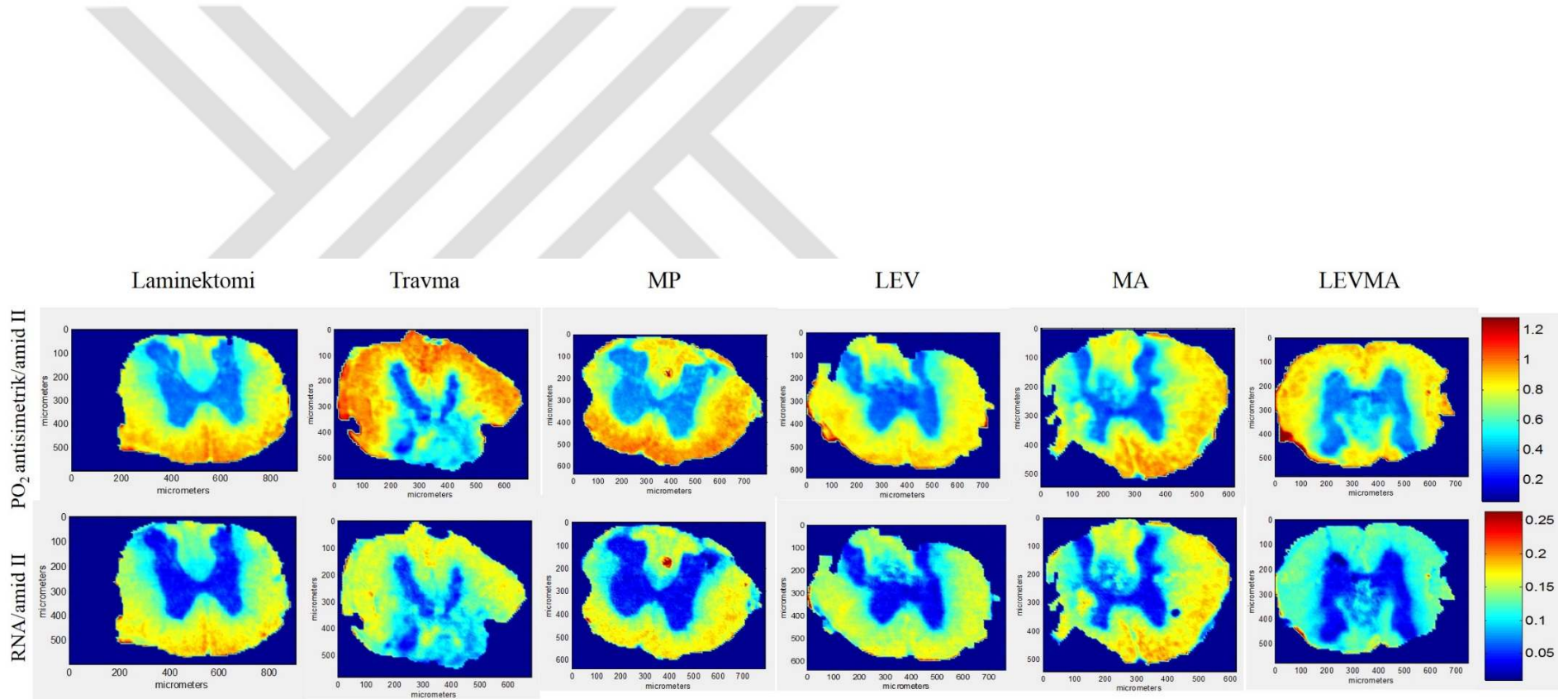
Şekil 28. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki ester grubu içeren lipid miktarını gösteren C=O ester/CH₂ antisimetrik gerilim ve hidrokarbon zincir uzunluğunu gösteren CH₃ antisimetrik/CH₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).



Şekil 29. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki fosfat grubu içeren lipid miktarını gösteren PO_2 antisimetrik gerilim/CH gerilim ve fosfat grubu içeren lipid miktarını gösteren PO_2 antisimetrik gerilim/ CH_2 antisimetrik gerilim oranlarına ait örnek spektral haritalar ($25 \times 25 \mu m$ IR dedektör piksel boyutu).



Şekil 30. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki protein ikincil yapı değişimlerini gösteren amid I/amid II ve lipid yıkım düzeyini gösteren C=O ester gerilim/amid II alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).



Şekil 31. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki nükleik asit protein oranını gösteren PO_2 antisimetrik gerilim/amid II ve nükleik asit protein oranını gösteren RNA/amid II alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (25 x 25 μm IR dedektör piksel boyutu).

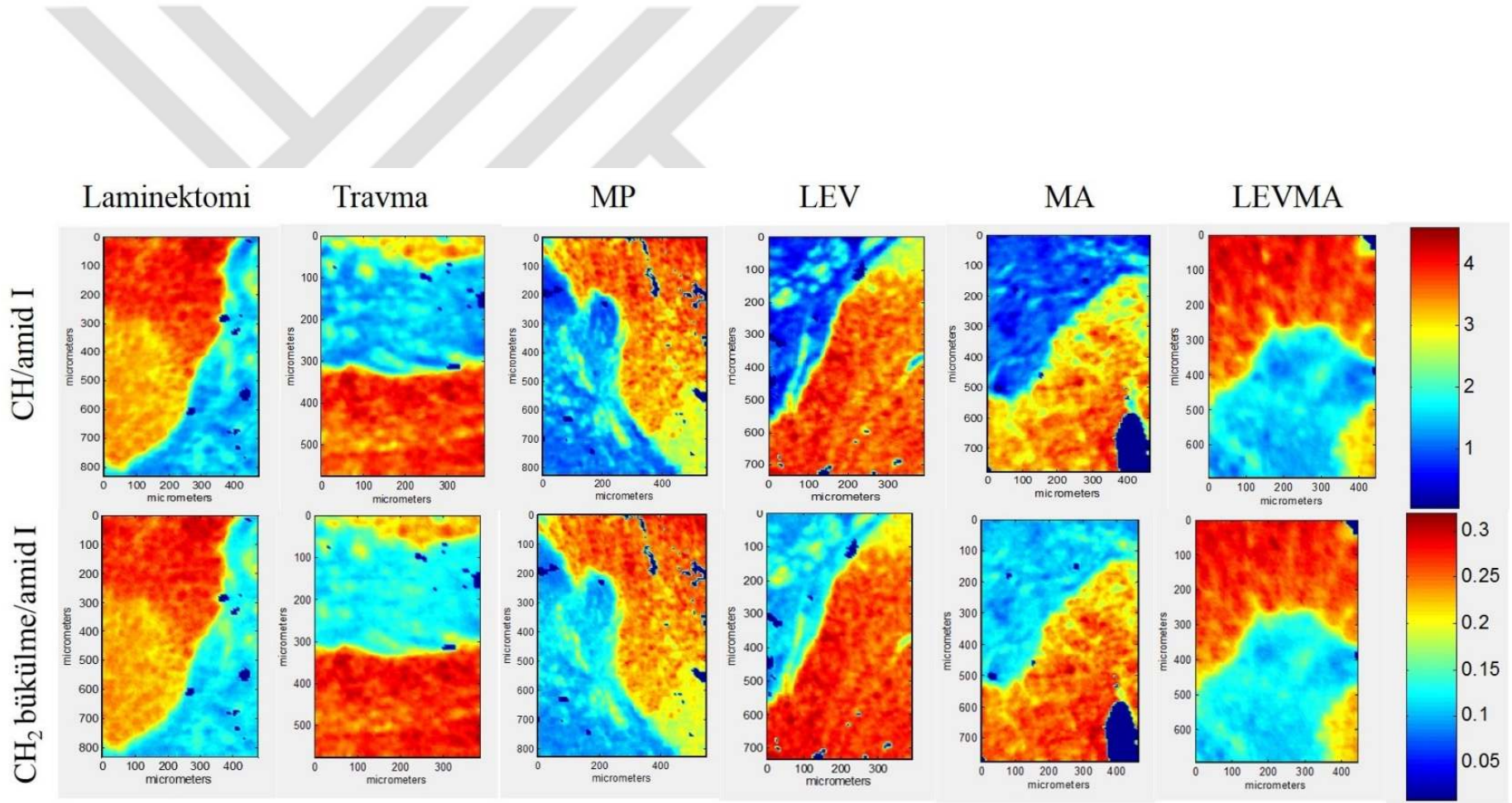
Tüm çalışma gruplarına ait spinal kord kesitlerinden daha yüksek çözünürlüklü 6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu kullanılarak elde edilen spektral haritalardan hesaplanan bazı bant alan oranlarının değerleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Ayrıca bu bant oranlarına ait 6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu ile toplanan spektral haritalardaki değişimler Şekil 32-39’da gösterilmektedir.



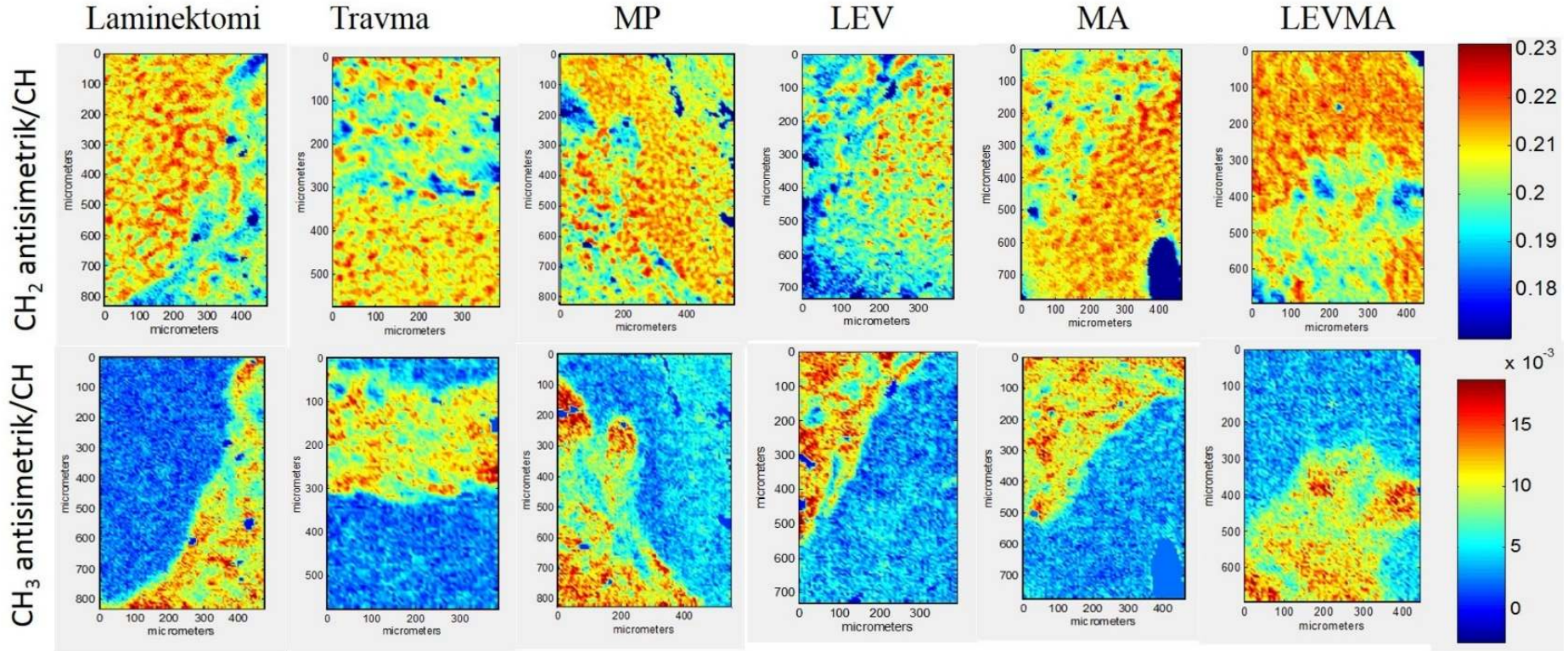
Tablo 8. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerinden 6,25 x 6,25 µm IR piksel boyutu ile toplanmış FTIR mikrospektroskopik haritalarında bazı bant alan oranlarındaki değişimler.

BANT ALANLARI ORANLARI	L	T	MP	LEV	MA	LEVMA
CH ger./Amid I (Lipit/Protein)	2,849±0,094	3,029±0,081	3,047±0,081	3,263±0,114*	3,130±0,086	3,145±0,105
CH ₂ buk./Amid I (Lipit/Protein)	0,181±0,005	0,190±0,004	0,192±0,004	0,204±0,006*	0,196±0,005	0,197±0,006
CH ₂ antis. ger./CH ger. (Lipitlerdeki metilen içeriği)	0,208±0,003	0,207±0,001	0,204±0,001	0,203±0,001*	0,202±0,001**,††	0,206±0,001
CH ₃ antis. ger./CH ger. (Lipitlerdeki metil içeriği)	0,006±0,002	0,006±0,0002	0,006±0,0003	0,006±0,0005	0,006±0,0004	0,006±0,004
C=O ger./CH ger. (Lipitlerdeki karbonil içeriği)	0,014±0,0002	0,013±0,0001	0,013±0,0002	0,013±0,0004**,†,‡	0,013±0,0002	0,014±0,0002 ^{##}
Olefinic=CH/CH ger.	0,002±0,0001	0,002±0,0001	0,002±0,0001	0,002±0,0001***,†††,‡‡‡	0,002±0,0001***,††,‡	0,002±0,0001†‡
Olefinic=CH/CH ₂ antis. ger. (Doymamış/doymuş lipit)	0,011±0,0002	0,011±0,0002	0,011±0,0003	0,009±0,0004***,†††,‡‡‡	0,010±0,0004***,††,‡	0,011±0,0003†‡
CH ₃ antis. ger./CH ₂ antis. ger. (Lipit zincir uzunluğu)	0,031±0,002	0,030±0,001	0,031±0,002	0,030±0,002	0,031±0,002	0,030±0,002
C=O ger./CH ₂ antis. ger. (Ester içeren lipit miktarı)	0,066±0,001	0,064±0,001	0,066±0,001	0,062±0,002	0,065±0,001	0,068±0,001†
C=O ger./Amid II (Lipitlerdeki yıkım derecesi)	0,138±0,004	0,144±0,004	0,149±0,004	0,153±0,006	0,154±0,005	0,159±0,005*
C=O ger./PO ₂ antis. ger. (Fosfat içermeyen lipitler)	0,181±0,003	0,179±0,001	0,179±0,002	0,175±0,005	0,182±0,005	0,190±0,003†
PO ₂ antis. ger./CH ger. (Fosfat içeren lipitler)	0,076±0,0008	0,075±0,001	0,076±0,001	0,074±0,001	0,075±0,001	0,074±0,001
PO ₂ antis. ger./CH ₂ antis. ger. (Fosfat içeren lipitler)	0,366±0,005	0,364±0,004	0,376±0,005	0,367±0,010	0,376±0,008	0,365±0,006
Amid I/Amid II (Protein yapısındaki değişim)	3,706±0,016	3,732±0,018	3,797±0,023**	3,807±0,021**	3,850±0,016***,†††	3,797±0,017**
PO ₂ antis. ger./Amid II (Nükleik asitlerdeki değişim)	0,756±0,021	0,795±0,018	0,822±0,017	0,857±0,025*	0,836±0,022	0,833±0,024
C-N ⁺ -C ger./Amid II (Nükleik asitlerdeki değişim)	0,122±0,005	0,129±0,004	0,132±0,004	0,146±0,006**	0,141±0,004	0,140±0,005

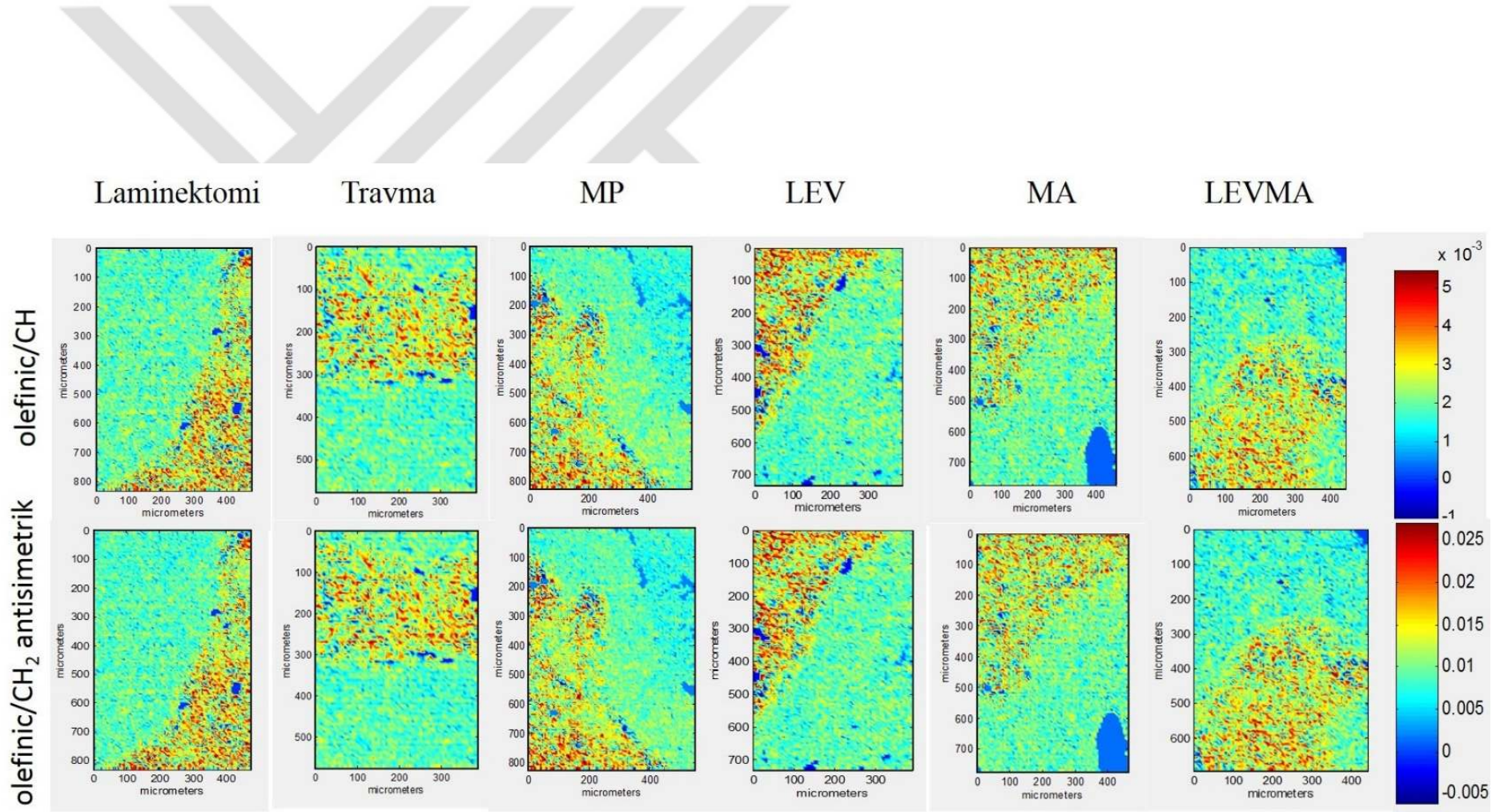
Veriler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile tüm gruplar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık laminektomi (L) grubuna göre tespit edilmişse * işareti ile, travma (T) grubuna göre tespit edilmişse † işareti ile, metilprednizolon (MP) grubuna göre tespit edilmişse ‡ işareti ile, manyetik alan (MA) grubuna göre tespit edilmişse § işareti ile, levetirasetam (LEV) grubuna göre tespit edilmişse † işareti ile gösterilmiştir. İstatistiksel anlamlılık *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 şeklinde gösterilmiştir.



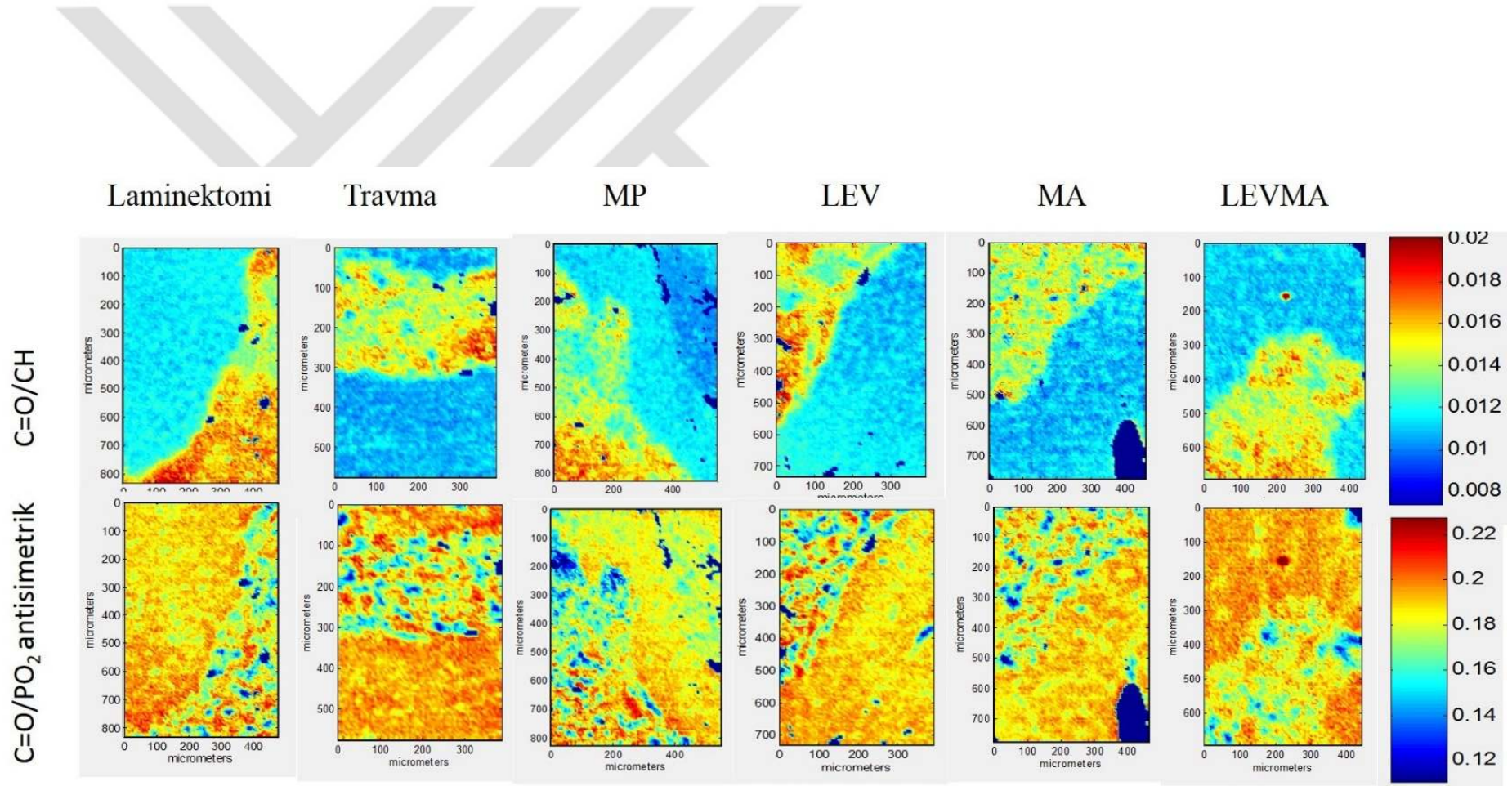
Şekil 32. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipit/protein değerinin değişimlerini gösteren CH gerilim/amid I ve CH₂ bükölme/amid I alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).



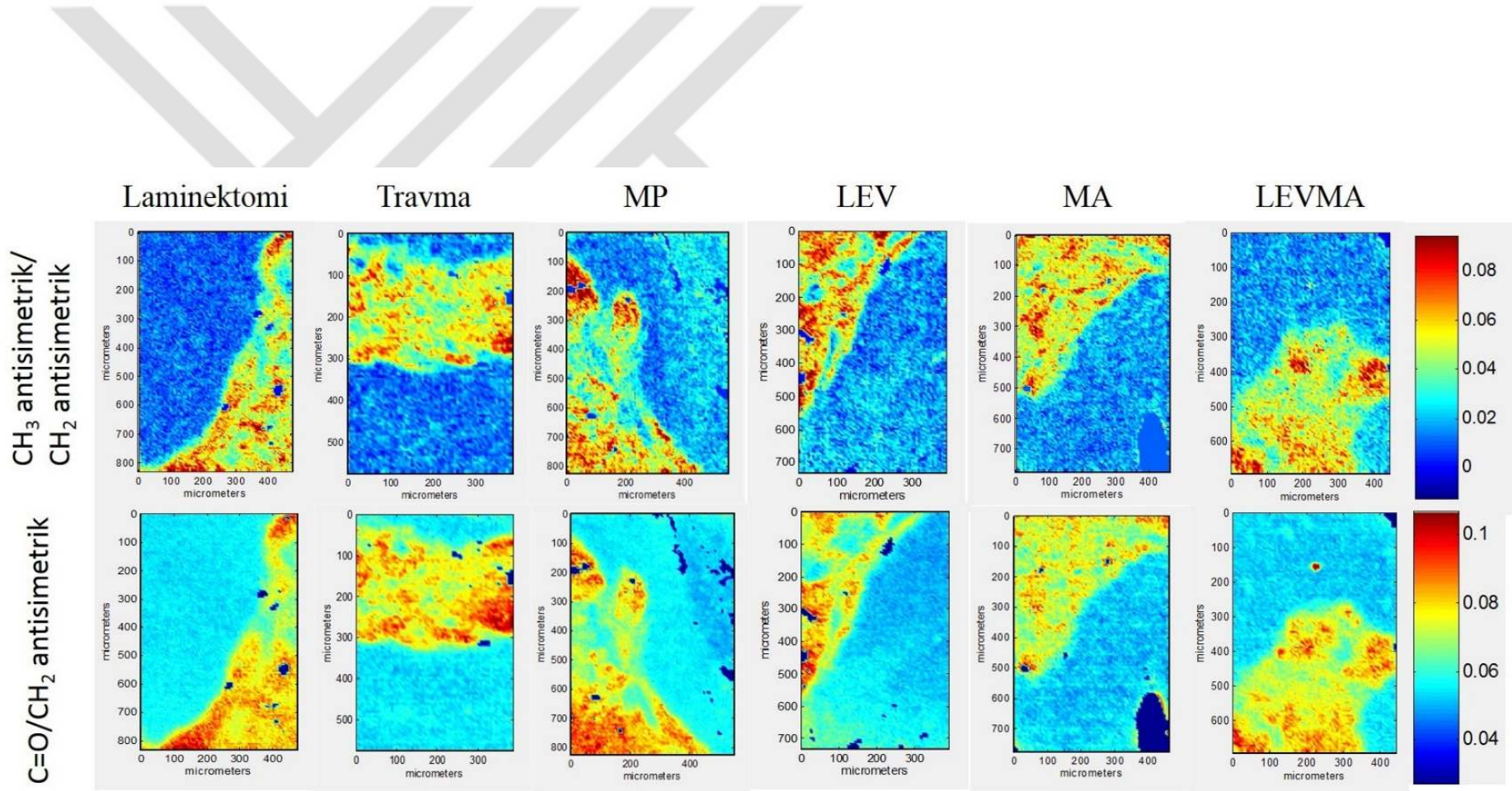
Şekil 33. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki etil grup miktarını gösteren CH₂ antisimetrik gerilim/CH gerilim ve lipidlerdeki metil grup miktarını gösteren CH₃ antisimetrik gerilim/CH gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).



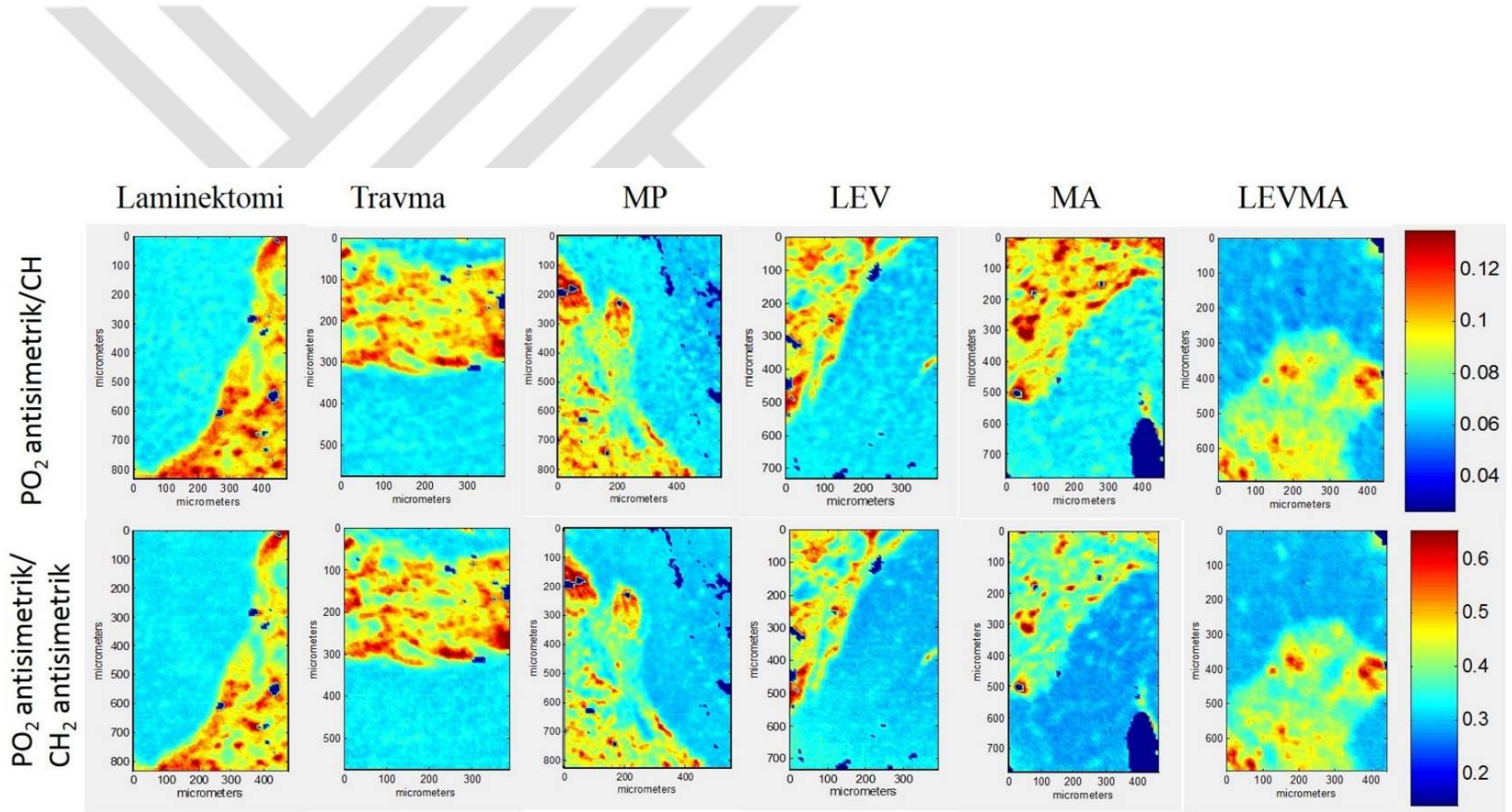
Şekil 34. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki doymamış lipit miktarını gösteren olefinik/CH gerilim ve doymamış-doymuş lipit oranını gösteren olefinik/CH₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).



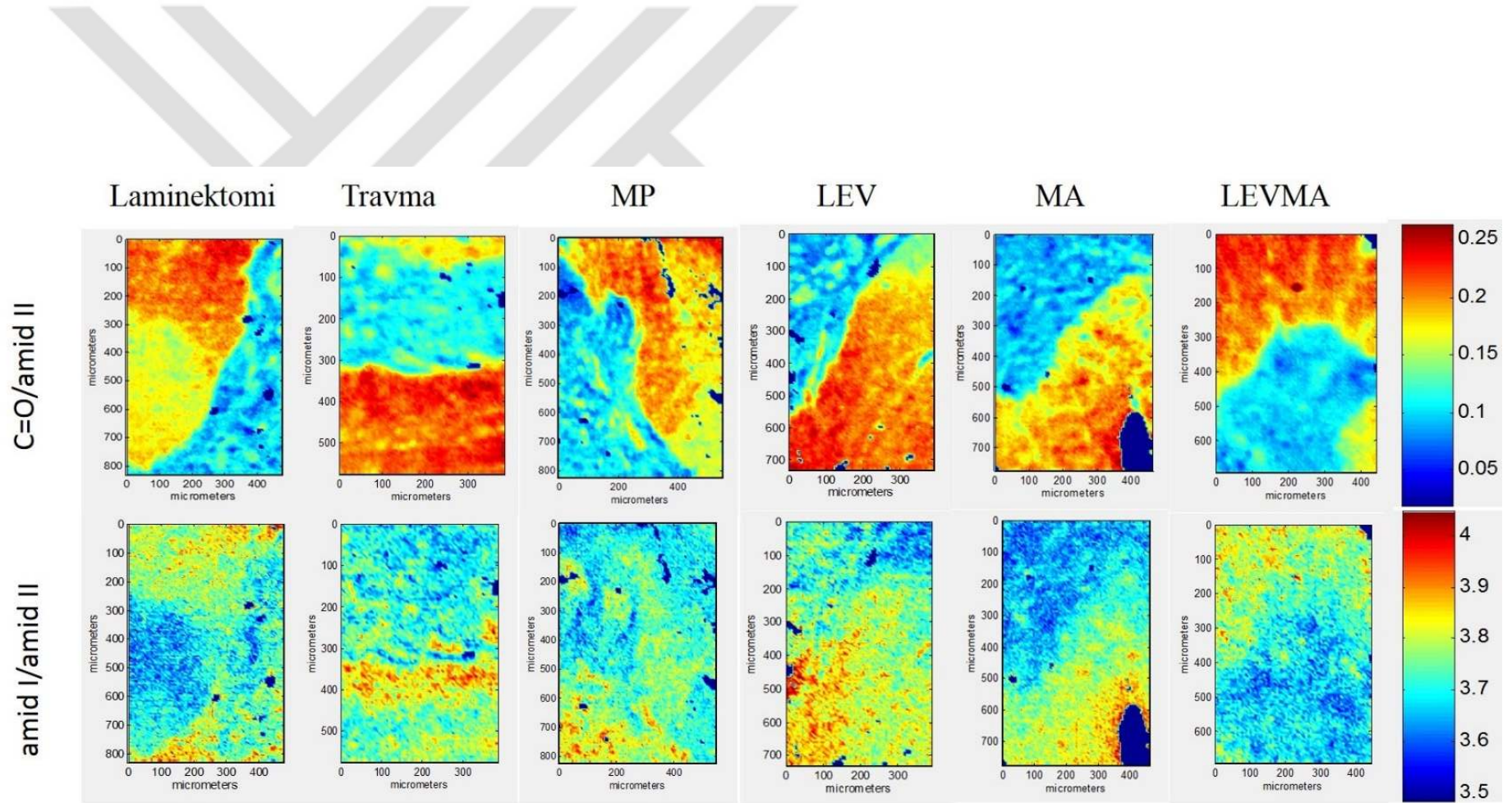
Şekil 35. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipitlerdeki karbonil miktarını gösteren C=O ester/CH gerilim ve fosfat içermeyen lipit içeriğini gösteren C=O ester/PO₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).



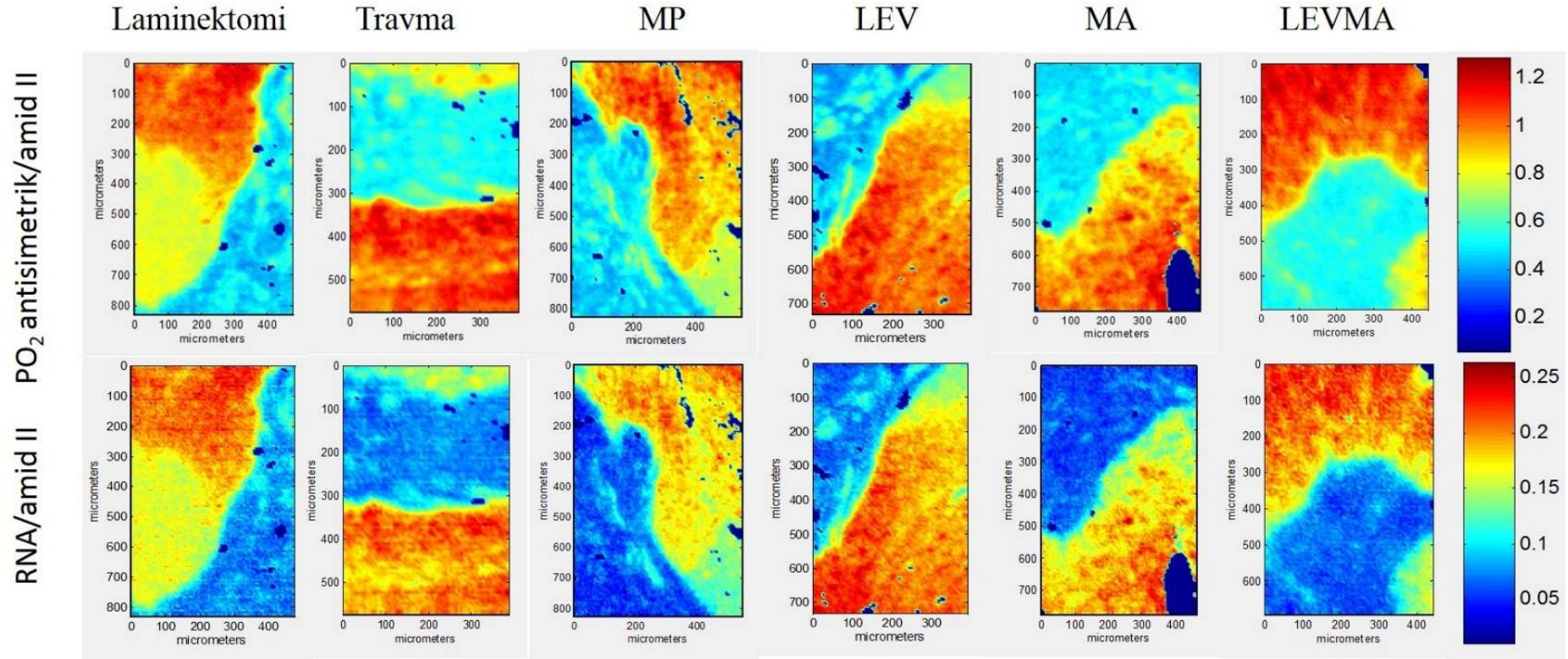
Şekil 36. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipidlerdeki ester grubu içeren lipid miktarını gösteren C=O ester/ CH_2 antisimetrik gerilim ve hidrokarbon zincir uzunluğunu gösteren CH_3 antisimetrik/ CH_2 antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek spektral haritalar ($6,25 \times 6,25 \mu\text{m}$ IR dedektör piksel boyutu).



Şekil 37. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki fosfat içeren lipid miktarını gösteren PO_2 antisimetrik gerilim/CH gerilim ve fosfat içeren lipid miktarını gösteren PO_2 antisimetrik gerilim/ CH_2 antisimetrik gerilim oranlarına ait örnek spektral haritalar ($6,25 \times 6,25 \mu m$ IR dedektör piksel boyutu).



Şekil 38. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki protein ikincil yapı değişimlerini gösteren amid I/amid II ve lipidlerdeki yıkım düzeyini gösteren C=O ester gerilim/amid II alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 μm IR dedektör piksel boyutu).



Şekil 39. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki nükleik asit protein oranını gösteren PO₂ antisimetrik gerilim/amid II ve nükleik asit protein oranını gösteren RNA/amid II alan oranlarına ait örnek spektral haritalar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).

FTIR spektrumunda CH gerilim bölgesinde bulunan bantlar sırası ile CH₃ antisimetrik gerilme titreşimlerinden, CH₂ antisimetrik gerilme titreşimlerinden, CH₃ simetrik gerilme titreşimlerinden ve CH₂ simetrik gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Watts ve De Pont, 1986; Severcan ve ark, 2000; Severcan ve ark, 2005; Cakmak ve ark, 2006). Bu bölgede bulunan CH₂ antisimetrik, CH₂ simetrik ve CH₃ antisimetrik gerilme titreşimlerinin bant şiddetleri veya bant alanları ağırlıklı olarak sistemdeki lipit miktarı ve CH₃ simetrik gerilme titreşimlerinin bant şiddeti/alanı ise sistemdeki protein ve lipit miktarları hakkında bilgi vermektedir (Mantsch, 1984; Severcan ve ark, 2000, Severcan ve ark, 2010, Cakmak ve ark, 2011). Spinal kord örneklerinde CH₃ simetrik gerilme titreşimlerinin çok küçük bir bant olarak gözlenmesinin de etkisiyle CH gerilim bölgesi lipit içeriğindeki değişimleri gözlemek için kullanılabilir. Kesitlerdeki lipit/protein dağılımının görüntülenebilmesi için toplam CH gerilim bölgesi alanı spektrumdaki ana protein bandı olan amid I bant alanına ve yine lipitlerden kaynaklanan CH₂ bükülme bant alanı amid I bant alanına oranlanmıştır (Bozkurt ve ark, 2010; Bozkurt ve ark, 2012; Cakmak ve ark, 2012; Turker ve ark, 2014). Elde edilen sonuçlara göre, laminektomi grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda lipit/protein oranında anlamlı olmayan bir artım gözlenmiştir (Tablo 7, Tablo 8). Bu artım LEVMA kombine tedavi grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Bu sonuç, laminektomi dışındaki çalışma gruplarının spinal kordlarında lipit içeriğinde bir artımın ya da protein içeriğinde bir azalmanın olduğunu göstermektedir.

CH₃ antisimetrik gerilme bandı lipitlerin asil zincirlerindeki metil grupları, CH₂ antisimetrik ve simetrik gerilim bandı ise lipitlerin asil zincirleri hakkında yapısal ve fonksiyonel bilgi vermektedirler (Takahashi ve ark, 1991; Bozkurt ve ark, 2010; Sen ve ark, 2015). Gruplararası lipit yapı değişimlerinin belirlenebilmesi için CH₂ antisimetrik gerilim, CH₃ antisimetrik gerilim ve karbonil (C=O) gerilim bant alanları ayrı ayrı toplam CH gerilim bölge alanına oranlanmıştır (Gasper ve ark, 2009; Cakmak ve ark, 2012; Turker ve ark, 2014; Sen ve ark, 2015). Sonuçlara göre, CH₂ antisimetrik gerilim/CH gerilim alan oranı ile incelenen spinal kord lipitlerdeki etil grubu miktarında travma ve LEV gruplarında anlamlı olmayan bir azalma; metilprednizolon, manyetik alan ve kombine tedavi gruplarında ise anlamlı olmayan bir artım tespit edilmiştir. En belirgin artış ise metilprednizolon tedavi grubunda gözlenmiştir. CH₃ antisimetrik gerilim/CH gerilim alan oranı ile incelenen spinal kord lipitlerdeki metil grubu miktarında ise laminektomi, travma, LEV ve manyetik alan tedavi gruplarında yakın değerler gözlenirken metilprednizolon ve kombine LEVMA tedavi gruplarında anlamlı olmayan bir azalma gözlenmiştir. Karbonil (C=O) ester gerilim/CH gerilim oranı ile gözlenen lipitlerdeki karbonil ester grup miktarı travma grubunda biraz

azalmış, levetirasetam tedavisi ile ise travma ve metilprednizolon tedavi gruplarına nazaran anlamlı bir şekilde azalmıştır (Tablo 8, $p<0.05$). Manyetik alan ve kombine LEVMA tedavi grubunda ise laminektomiye yakın değerler elde edilmiştir. Bu sonuçlar, lipit hidrokarbon zincir uzunluğunda ya da lipit peroksidasyon oranında gruplararası bir farklılığın olduğuna işaret etmektedir.

Spinal kord kesitlerindeki lipitlerdeki yıkılma (degradasyon) derecesi karbonil ester gerilim bant alanının amid II bant alanına oranlanmasıyla (Palaniappan ve Pramod, 2011) hesaplanmıştır. Bu alan oranı laminektomi grubu dışındaki tüm gruplarda biraz artmış olarak gözlenmesi spinal korda hasar verilmesiyle lipit yapılarında bir değişim olduğuna işaret etmektedir.

Lipitlerin zincir uzunluklarındaki değişimin gözlenebilmesi için CH_3 antisimetrik gerilim bant alanı CH_2 antisimetrik gerilim bant alanına oranlanmıştır (Wang ve ark, 2005; Cakmak ve ark, 2012; Sen ve ark, 2015). Elde edilen sonuçlara göre CH_3 antisimetrik/ CH_2 antisimetrik gerilim bant alan oranında travma, LEV ve manyetik alan tedavi gruplarında anlamlı olmayan bir artım gözlenirken, bu oran laminektomi, metilprednizolon ve LEVMA kombine tedavi gruplarında yaklaşık aynı değerlerde gözlenmiştir (Tablo 7). Bu alan oranındaki artım lipit açıl zincir uzunluğunun kısaldığını göstermektedir (Bozkurt ve ark, 2010). Bu bilgi göz önüne alındığında travma, LEV ve manyetik alan tedavi gruplarında lipit hidrokarbon zincir uzunluğunun kısaldığı söylenebilir. Dokularda artan lipit peroksidasyonu daha kısa zincirli lipitlerin miktarının artmasına neden olabilir (Levine ve Wetzel, 1994; Bozkurt ve ark, 2010). Bu sonucu daha iyi irdeleyebilmek için karbonil ($\text{C}=\text{O}$) gerilim bant alanının CH_2 antisimetrik gerilim bant alanına oranlanmasıyla spinal kord dokularındaki lipit açıl zincir sayısının dağılımı gözlenmiştir (Gasper ve ark, 2009). Elde edilen sonuçlara göre, bu oran travma ve LEV gruplarında anlamlı olmayan bir şekilde azalmıştır, bu sonuç travma ve LEV gruplarındaki açıl zincir sayısının azaldığına işaret etmektedir. LEVMA kombine tedavi grubunda ise bu oran biraz artmış yanı açıl zincir sayısında hafif bir artış gözlenmiştir.

Doymamış yağ asitlerinde bulunan $\text{HC}=\text{CH}$ gruplarının C-H bağlarındaki gerilme titreşimlerinden kaynaklanan ve 3012 cm^{-1} frekans değerinde gözlenen bandın şiddeti veya altındaki alan hidrokarbon zincirlerinin doymuşluğu hakkında bilgi vermektedir (Melin ve ark., 2000; Severcan ve ark, 2005; Cakmak ve ark, 2006; Bozkurt ve ark, 2010). Doymamış lipit miktarının doymuş lipit miktarına göre dağılımının gözlenebilmesi için olefinik ($\text{HC}=\text{CH}$) bant alanı CH_2 antisimetrik gerilim bant alanına oranlanmıştır. Ayrıca olefinik ($\text{HC}=\text{CH}$) bant alanı CH gerilim bölgesi alanına oranlanarak lipitler içerisinde doymamış lipitlerin oranındaki değişim gözlenmiştir (Gasper ve ark, 2009; Cakmak ve ark, 2011;

Cakmak ve ark, 2012; Sen ve ark, 2015). Elde edilen sonuçlara göre, laminektomi, travma ve metilprednizolon ve kombine LEVMA gruplarında birbirine yakın doymamış lipid içeriği ve doymamış/doymuş lipid oranı gözlenirken LEV ve manyetik alan tedavi gruplarında doymamış lipid içeriğinde ve doymamış/doymuş lipid oranında bir azalma tespit edilmiştir ($p<0.001$).

Bunların yanı sıra, fosfat içermeyen lipidlerin dağılımı karbonil ($C=O$) gerilim bant alanının PO_2 antisimetrik gerilim bant alanına oranlanması ile incelenmiştir (Gasper ve ark, 2009). Fosfat içermeyen lipidlerin diğer gruplarda yaklaşık değerlerde olduğu fakat kombine LEVMA tedavi grubunda arttığı gözlenmiştir. Fosfat içeren lipidlerdeki değişim ise PO_2 antisimetrik gerilim bant alanının CH_2 antisimetrik gerilim bant alanına ve PO_2 antisimetrik gerilim bant alanının CH gerilim bölge alanına oranlanması ile gözlenmiştir (Gasper ve ark, 2009). Bu oranlarda gruplararası belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.

FTIR spektrumunda 1638 cm^{-1} frekansındaki proteinlerden kaynaklanan amid I bandı %80 oranında $C=O$ gerilme, %10 oranında $C-N$ gerilme ve %10 oranında $N-H$ bükülme titreşimlerinden, 1545 cm^{-1} frekansındaki yine proteinlerden kaynaklanan amid II bandı ise %60 oranında $N-H$ bükülme ve %40 oranında $C-N$ gerilme titreşimlerinden kaynaklanır (Takahashi ve ark, 1991; Wong ve ark, 1991; Stuart, 1997; Haris ve Severcan, 1999; Cakmak ve ark, 2006; Bozkurt ve ark, 2010). Bu bantların alan oranlarının birbirine oranlanmasıyla elde edilen amid I/amid II bant alan oranı protein ikincil yapısındaki değişimler hakkında bilgi verir (Schmidt ve ark, 2007; Ozek ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011; Bozkurt ve ark, 2012). Sonuçlara göre, bu oran tüm tedavi gruplarında artmıştır. Bu sonuç, tedavi gruplarında protein yapısında bir değişimin olduğunu göstermektedir.

Spektrumların $1200-1000\text{ cm}^{-1}$ frekans aralığındaki bantlar daha ziyade nükleik asit ve fosfolipit gibi fosfat (PO_2^-) grupları içeren sistemlerin içindeki $P=O$ bağının soğurma bantlarından oluşmaktadır (Diem ve ark, 1999; Liquier ve Taillandier, 1996; Cakmak ve ark, 2006; Bozkurt ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011). Bu bantlar, membranlardaki fosfolipitlerin kafa grupları hakkında önemli bilgiler de vermektedir (Mendelsohn ve Mantsch, 1986; Bozkurt ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011). FTIR spektrumunda 972 cm^{-1} frekans değerinde gözlenen $C-N^+-C$ gerilme titreşim bandı nükleik asitlerden, özellikle de RNA riboz-fosfat ana zincir titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Chiriboga ve ark, 2000; Banyay ve ark, 2003; Bozkurt ve ark, 2010). Bu nedenle nükleik asit ve protein dağılımındaki değişimler PO_2 antisimetrik gerilim bant alanının amid II bant alanına oranlanmasıyla ve RNA bant alanının amid II bant alanına oranlanmasıyla görüntülenmiştir (Bozkurt ve ark,

2010; Ozek ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011; Turker ve ark, 2014). Bu oranların özellikle LEV tedavi grubunda artmış olduğu gözlenmiştir.



5. TARTIŞMA

Gün geçtikçe artan miktarda kanıtla, hücre ve membran yapılarındaki protein, lipid kompozisyonları, doymamış/doymuş lipid miktarları gibi makromoleküler özelliklerin hücre ve dokularda membran fonksiyonu ve iyon kanalı kinetiği gibi bazı olaylarla ilintili olan makromoleküllerin yapı ve fonksiyon ilişkilerini belirleyerek pek çok fizyolojik bozuklukluğa dolaylı yoldan etkiledikleri gösterilmektedir (Spector ve Yorek, 1985; Awayda ve ark, 2004). Bu nedenle, günümüzde yapı ve fonksiyon ilişkilerini çözmeye yönelik araştırmalar önem kazanmaktadır. Bu doğrultuda bu çalışma, spinal kord hasarının ve hasarda uygulanan manyetik alan, levetirasetam ve kombine manyetik alan ve levetirasetam tedavisinin spinal kord doku bileşenlerinde neden olduğu makromoleküler içerik ve yapı değişimlerinin FTIR mikrospektroskopik görüntüleme yöntemi ile belirlenmesi ve olası tedavi etkinliğinin metilprednizolon tedavisi ile karşılaştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

FTIR mikrospektroskopik görüntüleme tekniği kızılötesi spektroskopisi ve ışık mikroskopunu bir araya getirerek küçük örnekler üzerinde bile mikroskopik düzeyde biyokimyasal yapı ve içerik analizi yapılmasına olanak sağlar (Szczerbowska-Boruchowska ve ark, 2007). Biyolojik materyallerin kızılötesi spektrumları lipid, protein, karbonhidrat ve nükleik asit gibi farklı makromoleküllerin kızılötesi soğurma bandı verebilen fonksiyonel gruplarına ait soğurma bantlarından oluşur. Bu nedenle, biyolojik materyalin kızılötesi spektrumları ve bu spektrumlar biraraya getirilerek oluşturulan spektral haritalar belirli fonksiyonel gruplara ait bantların frekansları, genişlikleri ve alanlarının incelenmesiyle materyalin biyokimyasal bileşenleri hakkında bilgi alınmasına, bu bileşenlerin yapısal değişimlerinin görüntülenmesine olanak sağlar (Kneipp ve ark, 2000; Kretlow ve ark, 2006; Cakmak ve ark, 2012). Belirli bir fonksiyonel gruba ait titreşimlerden kaynaklanan IR soğurma bantlarının altında kalan alan, söz konusu fonksiyonel grubun konsantrasyonu ile orantılıdır (Liu ve ark, 2002; Cakmak ve ark, 2006; Ozek ve ark, 2010). Spektrumda görülen bazı bantların alan değerlerinin oranlanması ile elde edilen alan oranları ise dokudaki değişimlerin örnek kalınlığından bağımsız olarak gözlemlenebilmesini sağlar. Biyolojik materyallerin içerik ve yapısı ve bulundurdıkları makromoleküllerin etkileşimleri dokuya özgü olduğu için kızılötesi spektrumu parmak izi gibi dokuya özgü bilgiler vererek hassas ve etkin bir biçimde hastalıkların veya dokulardaki bozuklukların etkilerinin belirlenmesinde kullanılabilir (Kneipp ve ark, 2000; Kretlow ve ark, 2006; Cakmak ve ark, 2012).

Biyolojik yapılarda membranlar farklı hücre fonksiyonlarının idame ettirilmesi ve düzenlenmesinde hayati göreve sahiptirler. Doku içeriğindeki lipit ve protein miktarı ve bunların birbirlerine göre oranları membran yapı ve dinamiğini en çok etkileyen faktörler içinde yer almaktadır (Szalontai ve ark, 2000). İncelenen sistemde lipit/protein oranında gözlenen değişim membran fonksiyonu ile yakın ilişki içerisinde olan lipit ve/veya protein asimetrisindeki değişim hakkında bilgi verebilir (Cakmak ve ark, 2012). Bu dağılımın gözlenebilmesi için FTIR spektrumunda CH gerilim bölge alanının (lipit) amid I bant alanına (protein) oranlanmasıyla ya da CH₂ bükülme bant alanının (lipit) amid I bant alanına (protein) oranlanmasıyla elde edilen lipit/protein oranı kullanılabilir. Elde edilen sonuçlara göre lipit/protein oranının laminektomi ile karşılaştırıldığında diğer gruplarda yüksek olmakla birlikte en belirgin lipit/protein oranının LEV grubunda olduğu gözlenmiştir (Tablo 8). Sinir sisteminde nöronların aksonlarının etrafını saran bir fosfolipit tabakası olan miyelin kılıfı tabakalı yapısı nedeniyle yüksek lipit içeriğine sahiptir ve hücrelerdeki diğer membranlarla karşılaştırıldığında daha yüksek lipit/protein oranına sahiptir (Szczerbowska-Boruchowska ve ark, 2007). Miyelin tabakasında bulunan lipitler hücrelerde bulunan diğer biyolojik membran yapılarında da bulunmasına rağmen, galaktolipitler, serebrositler ve sülfatidler gibi bazı lipitler diğer membranlara nazaran miyelin kılıf içerisinde daha fazla oranda bulunurlar (Levine and Wetzel, 1993). Spinal kord lipit içeriğine bakıldığında doku içerisinde serebral ak maddeye benzer şekilde fosfogliseritkolin, fosfogliseritetanolamin, fosfogliseritinositol, fosfogliseritserin, sfingomiyelin gibi fosfolipitler ve bu yapılara bağlı doymuş ve doymamış yağ asitleri ile kolesterol, serebrosid, sülfatid ve gangliosit gibi lipitlerin bulunduğu bildirilmiştir (Svennerholm ve ark, 1992).

Lipitler hücre membranının büyük bir kısmını oluştururlar ve hücrelerde görülen membran hasarının önemli bir kısmı lipit yapısındaki ve içeriğindeki değişimlere neden olabilmektedir. Biyolojik membranların yapısında bulunan fosfolipitlerin çoğunluğunu oluşturan çoklu doymamış yağ asitleri bulundurdukları çift bağın bitişik karbon atomundaki karbon-hidrojen bağını zayıflatması nedeniyle serbest radikallerle etkileşime girmeye yatkınlardır (Betteridge, 2000). Serbest radikaller bu yağ asitlerinin çift bağları ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna neden olurlar. Lipit peroksidasyonu öncelikle çoklu doymamış yağ asidi zincirlerinin çift bağ yerleşimlerinde meydana gelir. Gerçekleşen bu lipit peroksidasyonu lipit yapısındaki doymamış bağların azalmasına, doymamış lipit içeriğinin azalmasına ve uzun zincirlerin daha kısa yapıları zincirlere kırılmasına yol açar (Levine ve Wetzel, 1998; Zwart ve ark, 1999; Olusi, 2002; Cakmak ve ark, 2012). Bu nedenle gerçekleşen lipit peroksidasyonu membranın doymamış/doymuş lipit oranında değişikliğe,

membranda çapraz bağlanmış lipid-lipit ve protein-lipit kısımlarının oluşmasına neden olarak daha katı, esnekliği azalmış bir membran yapısı oluşmasına yol açar (Curtis ve ark, 1984; Niranjana ve ark.; 2000). Bu durum membran fonksiyonlarını etkiler.

Sistem içerisindeki doymamış bağlanmadaki azalma FTIR spektrumundaki olefinik bant ile gözlenebilir (Severcan ve ark, 2005). FTIR spektrumunda olefinik bant alanının toplam CH gerilme bölgesi bant alanına oranlanmasıyla lipid içeriğindeki doymamış bağların oranı ve doymamış yağ asidi miktarının doymuş yağ asidi miktarına oranlanması ile görüntülenen doymamışlık indeksi dokulardaki lipid peroksidasyon oranını tespit etmek amacıyla kullanılabilir (Gasper ve ark, 2009; Sen ve ark, 2015). Olefinik bant alanında ve doymamış yağ asidi indeksiindeki azalma ile tespit edilen lipidlerin içeriğindeki doymamış yağ asidi miktarının az olması daha yüksek oranda gerçekleşen lipid peroksidasyonunun bir sonucu olarak gözlenebilir (Brunch ve ark, 1983; Curtis ve ark, 1984; Bozkurt ve ark, 2010; Sen ve ark, 2015). Çalışmada elde edilen sonuçlar, özellikle tek başına uygulanan MA ve LEV tedavilerinin spinal kord dokularında daha az doymamış lipid içeriğinin gözlenmesine neden olduğunu ve doymamış/doymuş lipid oranını azalttığını göstermiştir. Bu sonuç, bu gruplarda artan lipid peroksidasyonuna işaret ediyor olabilir. Fakat kombine LEVMA tedavisinin artan lipid peroksidasyonunu engelleyerek doymamış lipid içeriğinde daha küçük miktarda bir azalmaya neden olduğu görülmüştür. Literatürde LEV tedavisinin epilepsi modeli oluşturulan deneklerin beyin reaktif oksijen türleri miktarını azalttığı ve antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı (Mazhar ve ark, 2016), polinöropati oluşturulmuş sıçanlarda sepsisin erken dönemlerinde lipid peroksidasyon son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA) plazma seviyelerini azalttığı (Erbaş ve ark, 2013), pilokarbin ile tetiklenen epileptik nöbetler geçiren farelerde hipokampustaki lipid peroksidasyon seviyesini gösteren tiyobarbiturik asit reaktif maddelerin (TBARS) oranını azalttığı (Oliviera ve ark, 2007) bildirilmiştir.

Literatürde manyetik alan uygulamasının çeşitli patolojik durumlarda tedavi etkinliği incelenmiş olan çalışmalarda manyetik alanın lipid peroksidasyonu üzerine olan etkilerinde farklı sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir. Glinka ve arkadaşları (2013) 40 Hz 10 mT düşük frekanslı manyetik alan uygulamasının yara iyileşmesi modelinde antioksidan enzim aktivitelerinde değişime neden olarak fosfolipid peroksidasyonunu inhibe ettiği sonucuna ulaşılmıştır. Emre ve arkadaşları (2011) 1,5 mT şiddetindeki darbeli manyetik alanın karaciğer dokusunda lipid peroksidasyona karşı koruyucu etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Dinçer ve arkadaşları (1998) 50 Hz 120µT düşük frekanslı elektromanyetik alanın fare böbrek dokusunda lipid peroksidasyonu anlamlı bir şekilde azalttığını tespit etmişlerdir. Buna karşın Samano ve arkadaşları (2010) akut 60 Hz frekanslı elektromanyetik alana maruz kalan

Wistar sıçanların karaciğer, kalp, böbrek ve plazmalarındaki antioksidan enzim seviyelerinin değişmediğini ve dokularda lipit peroksidasyonu işaret eden herhangi bir değişim olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ise tek başına uygulanan manyetik alan tedavisinin lipit peroksidasyonunu artırdığı yönündedir. Bu sonucu destekler biçimde, Watanabe ve arkadaşları (1997) ise 4.7 T şiddetinde durgun manyetik alanın lipit peroksidasyonunu fare karaciğerlerinde anlamlı bir şekilde artırdığını fakat böbrek, kalp, akciğer ve beyin dokularında bir değişime neden olmadığını bildirmişlerdir.

Serbest radikallerin saldırısı sonucunda lipitlerdeki kimyasal bağların değişimi lipit yapılarında da bazı değişimlere sebep olabilir (Zwart ve ark,1999). Lipit yapısındaki bu değişimler, FTIR spektrumlarında gözlenen bazı bant alanlarının birbirine oranlanmasıyla elde edilen hidrokarbon zincir uzunluğu, lipitlerdeki karbonil, metil ve etil grup miktarı, yapısında ester grubu içeren, fosfat grubu içeren veya içermeyen lipitlerin oranı gibi parametreler yardımıyla görüntülenebilmektedir (Gasper ve ark, 2009; Antoine ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011; Sen ve ark, 2015). FTIR spektrumunda karbonil ester/amid II bant oranı ile örneklerdeki lipitlerdeki yıkım (degradasyon) oranı gözlenebilir (Palaniappan ve Pramod, 2011). Bu oranın laminektomi dışında tüm gruplarda artmış olarak gözlenmesi spinal kord hasarı ile lipit yapılarında değişim olduğunu ve lipit yıkımının arttığını göstermektedir. Benzer şekilde, Lukacova ve arkadaşları (1998) yapmış oldukları çalışmada abdominal aort bağlanması ile oluşturulan iskeminin spinal kord lipit içeriğinde değişime neden olduğunu ve fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatilserin, fosfatidilinositol ve sfingomiyelin gibi fosfolipitlerde degradasyona neden olduğunu bildirmişlerdir. Lipit yapısında görülen oksidatif yıkım ile lipit hidrokarbon zincir uzunluğunda değişimler olabilmektedir (Zwart ve ark, 1999; Cakmak ve ark, 2012; Sen ve ark, 2015). Lipitlerin hidrokarbon zincirlerinin gövde kısmında CH₂ gruplarının, uç kısmında ise CH₃ moleküllerinin bulunduğu bilinmektedir (Luckey, 2008). FTIR spektrumunda bulunan CH₃ antisimetrik gerilim bant alanının CH₂ antisimetrik gerilim bant alana oranlanması ile lipit hidrokarbon zincir uzunluğu hakkında bilgi edilebilir (Wang ve Zhang, 2005). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre lipitlerdeki etil grubu miktarının travma ve LEV gruplarında biraz azaldığı, metilprednizolon ve kombine LEVMA tedavi gruplarında arttığı gözlenmiştir (Tablo 7, Tablo 8). Ayrıca, spinal kord travması sonucu daha kısa zincirli lipitlerin baskın hale geldiği, metilprednizolon ile kombine LEVMA tedavisiyle laminektomi grubundaki gibi uzun hidrokarbon zincirine sahip lipitlerin spinal kord dokularında baskın hale geldiği gözlenmiştir (Tablo 7, Tablo 8).

Lipit yapısındaki diğer değişimleri tespit edebilmek için ester grubu içeren, fosfat grubu içeren ya da içermeyen lipit içeriğindeki değişim görüntülenmiştir. Karbonil ester/CH₂

antisimetrik gerilim bant alan oranı ile ester grubu içeren lipitler ile ilgili bilgi edinilebilir (Gasper ve ark, 2009). Bu oranın travma ve LEV tedavi grubunda azalması ester grubu içeren lipitlerin oranında bir azalma olduğunu göstermektedir. Ayrıca, kombine LEVMA tedavi grubunda bu oran artmış yani ester grubu içeren lipit oranında LEV grubuna nazaran bir artım gözlenmiştir. Bu sonuçları destekler şekilde karbonil ester/CH gerilim bant oranında LEV grubunda bir azalma ve kombine LEVMA tedavi grubunda artım gözlenmiştir, bu sonuç lipitlerdeki ester grubu içeriğinin LEV grubunda azaldığını ve kombine LEVMA grubunda biraz arttığını göstermektedir. Lipitlerin hidrolizi sırasında açığa çıkan yağ asitleri serbest kolesterol ile birleşerek kolesterol esterlerini oluşturabilirler (Johnson ve ark, 1949). Bu bilgi göz önüne alındığında kombine LEVMA tedavi grubunda görülen ester grubu içeriğindeki artım kolesterol esterlerinin artımı nedeniyle görülmüş olabilir. Ester grubu içeren lipitlerin yanı sıra fosfat grubu içeren lipit içeriği PO_2 antisimetrik/ CH_2 antisimetrik gerilim bant oranı ve PO_2 antisimetrik/CH gerilim bant oranı ile, fosfat grubu içermeyen lipit içeriği ise karbonil ester/ PO_2 antisimetrik gerilim bant oranı ile incelenmiştir (Gasper ve ark, 2009). Sonuçlara göre fosfat grubu içeren lipit miktarı metilprednizolon ve kombine LEVMA tedavi grubunda azalırken fosfat grubu içermeyen lipit miktarı LEV grubunda azalmış ve kombine LEVMA grubunda artmıştır. Kombine LEVMA tedavi grubunda fosfat grubu içeren lipitlerin azalması (fosfat grubu içermeyen lipitlerin artması), bu gruba ait spinal kord örneklerinde fosfolipit içeriğinin azalmasına veya sfingolipitler, glikolipitler, kolesterol ester veya yağ asitleri gibi fosfat içermeyen lipitlerin miktarının artmasına işaret ediyor olabilir (Gasper ve ark, 2009).

Serbest radikaller yalnız membran yapıları ve lipitler üzerinde değil tüm hücresel elemanlar ve yapısal proteinler üzerinde de hasar oluşturabilirler. Reaktif oksijen türleri (ROS) proteinler ile etkileştiğinde protein yapısında amino asit hasarı, üçüncül yapı değişimleri, indirgeme, parçalanma ve peroksidasyon gibi değişimlere yol açarak dolaylı ya da direk hasara neden olurlar (Kohen ve Nyska, 2002). FTIR spektrumunda yer alan ve proteinlerden kaynaklanan amid I ve amid II bantları kullanılarak protein içeriği ve yapısındaki değişimler hassaslıkla izlenebilir (Haris ve Severcan, 1999; Bozkurt ve ark, 2010; Bozkurt ve ark, 2012) ve amid I/amid II bant alan oranındaki farklılıklar protein yapısında gerçekleşen değişimlere işaret edebilir (Melin ve ark, 2000; Schmidt ve ark, 2007). Elde edilen sonuçlara göre bu bant oranının değeri tüm tedavi gruplarında artmıştır. Bu sonuç, özellikle tedavi gruplarında protein ikincil yapılarında bir değişim olduğuna işaret etmektedir. FTIR spektrumu ile proteinlerin toplam ikincil yapı değişimleri izlenebildiği göz önüne alınırsa protein yapısındaki değişim tedaviler sonucunda farklı görevlerde rol oynayan farklı enzim ya da proteinlerin ifadesinin arttığına işaret ediyor olabilir. Tablo 8'deki amid I/amid II alan

oranı değerleri göz önüne alınırsa kombine LEVMA tedavi grubu ile metilprednizolon tedavi grubu aynı sayısal değere sahiptir. Bu sonuç, kombine LEVMA tedavisinin protein yapısı üzerinde metilprednizolona yakın bir etki oluşturduğunu işaret etmektedir.

FTIR spektrumunda yer alan PO_2^- simetrik ve antisimetrik gerilim bandı çoğunlukla nükleik asitler ve az miktarda fosfolipitlerin fosfat gruplarından kaynaklanmaktadır (Akkas ve ark, 2007). Fosfat gruplarındaki değişimler, nükleik asit sarmalındaki fosfat grupları pozisyonunun uzaysal değişimleri ile bağlantılıdır (Dovbeshkove ark, 2000). Ayrıca FTIR spektrumunda 972 cm^{-1} frekans değerinde gözlenen $C-N^+-C$ gerilme titreşim bandı nükleik asitlerden, özellikle de RNA riboz-fosfat ana zincir titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Chiriboga ve ark, 2000; Banyay ve ark, 2003; Bozkurt ve ark, 2010). Bu nedenle nükleik asit ve proteinlerin birbirlerine göre dağılımındaki değişimler PO_2^- antisimetrik gerilim/amid II bant alan oranı ve RNA/amid II bant alan oranı yardımıyla görüntülenmiştir (Bozkurt ve ark, 2010; Ozek ve ark, 2010; Cakmak ve ark, 2011; Turker ve ark, 2014). Sonuçlara göre, nükleik asitlerin proteinlere göre dağılımının spinal kord hasarı oluşturulan tüm gruplarda arttığı ve bu artışın LEV grubunda anlamlı olduğu gözlenmiştir. Nükleik asit/protein oranlarındaki değişimler spinal kord hasarı oluşturulan gruplarda protein sentezi ve gen ifadesinde değişimlerin olduğuna işaret etmektedir. Özellikle RNA/amid II bant oranındaki artım protein sentezinde bir artım olduğuna işaret ediyor olabilir (Bozkurt ve ark, 2010).

Spinal kord hasarında sinir ileti hızı epidural aralığın uyarımı ile mümkündür ve sıçanlarda spinal kord iskemisi sonrasında belirgin bir düşüş gösterir (Basoglu ve ark, 2013). Yakın zamanda yapılan araştırmalar oksidatif stresin spinal kord hasarı patafizyolojisinde etkisinin olduğunu göstermektedir. Hatta, spinal kord travmasını takiben oluşan ikincil hasar patofizyolojisinde en önemli mekanizmanın serbest radikaller tarafından tetiklenen ve demir ile katalize edilen lipit peroksidasyonu ile spinal nöronlar, glia ve mikrovasküler hücrelerindeki proteinlerin oksidatif/nitratif hasara uğramaları olduğu; peroksinitrit gibi reaktif nitrojen türleri ve bunların reaktif serbest radikallerinin lipit peroksidasyonunu ve protein nitrasyonunu tetikleyen temel moleküller olduğu bildirilmiştir (Hall, 2011; Fatima ve ark, 2014). Bu nedenle spinal kord travmasını takiben oluşan ikincil hasarın önlenmesinde oksidatif stresin engellenmesi önem taşımaktadır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre özellikle kombine LEVMA tedavisinin doymamış lipit miktarındaki azalmayı engellediği, lipit hidrokarbon zincir uzunluğundaki kısılmayı engellediği ve protein yapılarındaki değişim üzerinde metilprednizolon gibi bir etki gösterdiği gösterilmiş olup kombine LEVMA tedavisinin oksidatif stresin engellenmesinde etkili olduğu söylenebilir. Ayrıca, LEVMA grubunda ester grubu içeren ve fosfat grubu içermeyen lipit miktarındaki artım ile fosfat

grubu içeren lipit miktarındaki azalma bu grupta lipit kompozisyonunda bir değişim olduğunu; kolesterol ester miktarının arttığını, fosfolipit içeriğinin azaldığını veya sfingolipitler, glikolipitler, kolesterol ester, yağ asitleri gibi fosfat içermeyen lipitlerin miktarının arttığını gösterebilir. Çalışma sonuçları göz önüne alındığında kombine LEVMA tedavisinin spinal kord travmasında ikincil hasarı önlemede rolü olabileceği görülmüştür. Fakat, elde edilen tedavi etkinliğinin artırılması için uygulanan LEV dozu ya da manyetik alan uygulama şeklini geliştirmeye yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Spinal kord hasarında kombine LEVMA uygulaması geliştirildiği takdirde ileride klinikte kullanım açısından umut vaat etmektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yakın gelecekte elektromanyetik sistemlerin biyokimyasal kaskadları modüle etme özelliğinden faydalanan cihazların geliştirilmesi ile Dünya çapında sağlık hizmetlerinin maliyetleri üzerinde olumlu bir etki oluşturulması sağlanabilecektir.

Spinal kord, tıpkı beyin gibi yapısal ve kimyasal heterojenliğe sahip bir dokudur. İçerisinde bulunan ak ve gri madde makromoleküler kompozisyonu da spektrumlarından da anlaşılacağı gibi birbirinden farklıdır. Beyindeki ak ve gri maddeye benzer olarak spinal korddaki nöronların aksonları daha çok ak maddede yoğunlaşmışken hücre gövdeleri gri maddede yerleşmiştir. Bu çalışmanın devamında elde edilmiş olan FTIR mikrospektroskopik haritalarının daha detaylı incelenmesi ile uygulanan tedavilerin ayrı ayrı ak ve gri maddede nasıl değişimlere neden olduğunun ortaya konması ile hücre gövdesi ve aksonlarda nasıl yapısal ve içeriksel değişimlerin olduğu ileriki çalışmalarla belirlenecektir.

Elde edilen sonuçlara göre lipit/protein oranının en belirgin LEV grubunda olduğu, LEV ve MA tedavi gruplarında doymamış lipit içeriğinin daha az belirlenmiş olması lipid peroksidasyonun arttığını göstermektedir. Laminektomi dışındaki tüm gruplarda travmaya bağlı olarak lipitlerdeki yıkım belirlenmiştir. Lipitlerdeki etil gruplarının oranları dikkate alınacak olursa travma ve LEV gruplarında bu oran daha az olmuştur. Travma sonucunda kısa zincirli lipitlerin sayısının arttığı, metilprednizolon ve kombine LEVMA tedavisi ile spinal kord dokusunda uzun hidrokarbon zincirlerinin sayısının arttığı tespit edilmiştir. Ester grubu içeren lipitlerin travma ve LEV grubunda azalmasına karşın, kombine LEVMA tedavi grubunda bu oranın arttığı görülmüştür. Fosfat grubu içeren lipitlerin sayısındaki değişim metilprednizolon ve LEV tedavi gruplarında azalma gösterirken, fosfat grubu içermeyen lipitlerin azaldığı gözlemlenmiştir. Spinal kord protein yapısındaki değişim tüm tedavi gruplarında belirgin şekilde görülmüş olup, kombine LEVMA ve metilprednizolon gruplarından alınan sonuçlar protein yapı değişikliğinin benzer olduğunu göstermektedir. Bu sonuç ikincil yapı değişikliğinin gerçekleştiğini gösteriyor olabilir. Nükleik asitlerin proteinlere göre dağılımı tüm gruplarda sayısal olarak artmış ve bu artış LEV tedavi grubunda anlamlı olmuştur.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre; kombine LEVMA tedavisi doymamış lipitlerin sayısındaki azalmayı ve lipit hidrokarbon zincirinin kısalmasını engelleyerek

metilprednizolon ile yakın etki göstermiştir. Bu sonuç kombine LEVMA tedavisinin oksidatif stresin engellenmesinde etkili olduğu söylenebilir.

Çalışma sonuçları göz önüne alındığında manyetik alanın hastalık tedavisinde kullanımının uygulanan manyetik alan şiddeti, frekansı ve uygulanış biçimine göre farklı sonuçlar oluşturabilmektedir (Ross ve ark, 2016). Bu nedenle, spinal kord hasarı tedavisinde de uygun manyetik alan dozunun belirlenmesine yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun yanı sıra, spinal kord travmasında gerçekleştirilen manyetik alan ve LEV uygulamalarının apoptotik mekanizmalara etkisi, oksidatif stres düzeyinde ve antioksidan enzim fonksiyonlarında neden oldukları değişimler, sinir ileti hızı üzerindeki etkileri, iyon kanalları üzerine olan etkileri ileriki çalışmalarla belirlenmelidir.



KAYNAKLAR

- Acerbo AS, Miller LS** Assessment of the chemical changes induced in human melanoma cells by boric acid treatment using infrared imaging, *Analyst*, 2009, 134, 1669–1674.
- Akan Z, Aksu B, Tulunay A, Bilsel S, Inhan-Garip A.** Extremely low-frequency electromagnetic fields affect the immune response of monocyte-derived macrophages to pathogens. *Bioelectromagnetics*, 2010,31:603–612.
- Akkas SB, Inci S, Zorlu F.** Acute spinal cord injury an inappropriate standard of care. *J Neurosurgery* 2000;93 (suppl): 175-179.
- Akkas SB, Inci S, Zorlu F.** Melatonin affects the order, dynamics and hydration of brain membrane lipids, *Journal of Molecular Structure*, 2007,834; 207-215.
- Allen AR:** Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report. *JAMA* 1911;57: 877-880.
- Amar AP, Levy ML.** Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurg.* 1999 May; 44(5): 1027- 1040.
- Anderson TE, Stokes BT.** Experimental models for spinal cord injury research: physical and physiological considerations. *J Neurotrauma* 1992;9(Suppl 1): S135–42.
- Andra W, Nowak H.** Magnetism in Medicine. Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007.
- Antoine KM, Mortazavi S, Miller AD, Miller LM** Chemical differences are observed in children's versus adults' latent fingerprints as a function of time. *J Forensic Sci*, 2010, 55: 513-518.
- Arrondo JL, Goni FM, Macarulla JM** Infrared spectroscopy of phosphatidylcholines in aqueous suspension. A study of the phosphate group vibrations. *Biochim Biophys Acta* , 1984, 794: 165-168.
- Awayda MS, Shao W, Guo F, Zeidel M, Hill WG ()** ENaC-membrane interactions: regulation of channel activity by membrane order. *J Gen Physiol*, 2004, 123: 709-727.
- Ayer, J. B.** Cerebrospinal fluid in experimental compression of the spinal cord. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1919;2, 158-164.
- Backhaus J., Hennerici M.G., Fatar M.,** Infrared spectroscopy: A new diagnostic tool in Alzheimer disease, *Neurosci Lett*, 2007, 420(1), 29-33.
- Banyay M, Sarkar M, Graslund A** A library of IR bands of nucleic acids in solution. *Biophys Chem*, 2003, 104: 477-488.

- Basile A, Zeppa R, Pasquino N.** Exposure to 50 Hz electromagnetic field raises the levels of the anti-apoptotic protein BAG3 in melanoma cells. *J Cell Physiol*, 2011, 226(11):2901–2907.
- Basoglu H, Kurtoglu T, Cetin NK, Bilgin MD and Kiylioglu N,** Assessment of in vivo spinal cord conduction velocity in rats in an experimental model of ischemic spinal cord injury, *Spinal Cord*, 2013, 51, 616–622.
- Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC.** A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats, *J Neurotrauma*. 1995 Feb;12(1):1-21.
- Benjamins JA.** Molecular structure of the myelin membrane; Multiple sclerosis: immunology, pathology, and pathophysiology. (Herndon RM., eds) Demos Medical Publishing, New York, 2003; 31-50.
- Benzel E.C, Ferrara L,** Omurga ve omurilik yaralanmasının biyomekaniği spinal stabilite. Omurilik ve Omurga cerrahisi (Zileli M. ve Özer A.F ; Editörler), sayfa 797-811. 2002.
- Betteridge.DJ.** What is Oxidative Stress? *Metabolism*, 2000, Vol. 49, No.2; 3-8.
- Bilgen M.** A new device for experimental modeling of central nervous system injuries. *Neurorehabil Neural Repair*, 2005;19:219–226.
- Bilgin MD.** Elektromanyetik Dalgalar Biyofizik Ders Notları, Aydın, 2017;1-38.
- Blank M, Soo L.** Optimal frequencies for magnetic acceleration of cytochrome oxidase and Na, K-ATPase reactions. *Bioelectrochemistry*, 2001, 53(2):171–174.
- Blight AR, Zimper MP.** Acute spinal cord injury: Pharmacotherapy and drug development perspectives. *Current Opinion in Investigational Drugs* 2001; 2:801-808.
- Boskey A. ve Camacho N.P.,** FT-IR Imaging of Native and Tissue Engineered Bone and Cartilage, *Biomaterials*, 2007; 28, 2465-2478.
- Bozkurt O, Severcan M, Severcan F** Diabetes induces compositional, structural and functional alterations on rat skeletal soleus muscle revealed by FTIR spectroscopy: a comparative study with EDL muscle. *Analyst*, 2010; 135: 3110-3119.
- Bracken MB, Holford TR.** Effects of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurgery* 1993;79:500-507.
- Bracken MB, Shepard M, Holford TR.** Methylprednisolone or tirilazad mesilate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury Randomized controlled trial. *J Neurosurgery* 1998; 89:699-706.
- Bruch R. C., Thayer W.S.,** Differential effect of lipid peroxidation on membrane fluidity as determined by electron spin resonance probes, *Biochim. Biophys. Acta*, 1983; 733, 216-222.

- Bunge RP, Puckett WR, Becerra JL, Marcillo A, Quencer RM.** Observations on the pathology of human spinal cord injury. A review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. *Adv Neurol* 1993; 59:75–89.
- CallaghanMJ, Chang EI, Seiser N, Aarabi S, Ghali S, Kinnucan ER, Simon BJ, Gurtner GC.** Pulsed electromagnetic fields accelerate normal and diabetic wound healing by increasing endogenous FGF-2 release. *Plast Reconstr Surg*, 2008, 121(1):130–141.
- Cakmak G, Togan I, Uguz C, Severcan F** FT-IR spectroscopic analysis of rainbow trout liver exposed to nonylphenol. *Appl Spectrosc*, 2003; 57: 835-841.
- Cakmak G, Togan I, Severcan F** 17 beta-estradiol induced compositional, structural and functional changes in rainbow trout liver, revealed by FT-IR spectroscopy: A comparative study with nonylphenol. *Aquat Toxicol*, 2006; 77: 53-63.
- Cakmak G, Zorlu F, Severcan M, Severcan F** Screening of Protective Effect of Amifostine on Radiation-Induced Structural and Functional Variations in Rat Liver Microsomal Membranes by FT-IR Spectroscopy. *Anal Chem*, 2011; 83: 2438-2444.
- Cakmak G, Miller LM, Zorlu F, Severcan F** Amifostine, a radioprotectant agent, protects rat brain tissue lipids against ionizing radiation induced damage: An FTIR microspectroscopic imaging study. *Arch Biochem Biophys*, 2012; 520: 67-73.
- Camacho N.P., Rinnerthaler S., Paschalis E.P., Mendelsohn R., Boskey A.L., Fratzl P.,** Complementary Information on Bone Ultrastructure from Scanning Small Angle X-ray Scattering and Fourier-Transform Infrared Microspectroscopy, *Bone*, 1999; 25, 287-293.
- Cameron P.G., Charette G.M.,** Automation of Fourier Transform Infrared of Temperature-Induced Phenomena, *Appl. Spectrosc.*, 35, 224, (1981).
- Chiriboga L, Yee M, Diem M** Infrared spectroscopy of human cells and tissue. Part VI: A comparative study of histopathology and infrared microspectroscopy of normal, cirrhotic, and cancerous liver tissue. *Appl Spectrosc*, 2000; 54: 1-8.
- Costa FP, de Oliveira AC, Meirelles R.** Treatment of advanced hepatocellular carcinoma with very low levels of amplitude-modulated electromagnetic fields. *Br J Cancer*, 2011, 105(5):640–648.
- Craig, W. M.** Pathology of experimental compression of the spinal cord. Proc. Staf Meeting Mayo Clinic 1932;7, 680-692.
- Crowe Maria J, Sun Zhong-Ping, Battocletti Joseph H, Macias Melissa Y, Pintar Frank A, and Maiman Dennis J,** Exposure to Pulsed Magnetic Fields Enhances Motor Recovery in Cats After Spinal Cord Injury, *SPINE*, 2003, Volume 28, Number 24, pp 2660–2666.

- Cruess RL, Kan K, Basset CAL.** The effect of pulsed electromagnetic fields upon bone metabolism in an experimental model of disuse osteoporosis. *Clin Orthop Relat Res*, 1983, 173:245–250.
- Curtis MT, Gilfor D, Farber JL** Lipid peroxidation increases the molecular order of microsomal membranes. *Arch Biochem Biophys*, 1984, 235: 644-649.
- Çimen A.** Anatomi. Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi. 1995:511-25.
- Das S., Kumar S., Jain S., Avelev V. D., Mathur R.** Exposure to ELF- magnetic field promotes restoration of sensori motor function in adult rats with hemisection of thoracic spinal cord. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2012.
- Delen E.,** Spinal kord travması oluşturulan sıçanlarda kefirin lizozomal proteazların salınımı üzerine olan etkilerinin araştırılması, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta uzmanlık tezi, Eskişehir, 2011, 6-9.
- Diem M, Boydston-White S, Chiriboga L** Infrared spectroscopy of cells and tissues: Shining light onto a novel subject. *Appl Spectrosc*, 1999;53: 148A-161A.
- Dinçer S, Kanan B, Ömeroğlu S, Gönül B.** Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Farelerde Doku Lipid Peroksidasyonu, Askorbik Asit ve Glutasyon Düzeylerindeki Değişiklikler. *İç Hastalıkları Dergisi*, 1998, 3;173-176.
- Dogan A., Ergen K., Budak F., Severcan F.,** Evaluation of Disseminated Candidiasis on an Experimental Animal Model: An FTIR Study, *Applied Spectroscopy*, 2007; 61(2), 199-203.
- Dovbeshko G. I., Gridina N. Y., Kruglova E. B., Pashchuk O. P.,** FTIR spectroscopy studies of nucleic acid damage, *Talanta*, 2000; 53, 233-246.
- Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM.** Gray's Anatomi. Çeviri: Yıldırım M. Gray's Anatomi. Ankara: Güneş Yayınevi, 2007:62-72.
- Ducker TB, Zeidman SM:** Spinal cord injury. Role of steroid therapy. *Spine* 1994; 19:2281-2287.
- Dumont R.H., Okonkwo D.O., Verma S., Hurlbert H.:** Acute spinal cord injury. Part I: Pathophysiologic Mechanisms, *Clin. Neuropharmacology*; 24(5): 254- 264, 2001.
- Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ.** Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology* 2001; 24(5):265-279.
- Elmusharaf MA, Cuppen JJ, Grooten HN, Beynen AC.** Antagonistic effect of electromagnetic field exposure on coccidiosis infection in broiler chickens. *Poult Sci*, 2007, 86(10):2139–2143.
- Emr M A, Howley S P. Hudgins L A, Varmus H.** Spinal cord injury: Emerging concept. National instute of neurological disorders and stroke. 2005 Agust 05.

- Emre M, Cetiner S, Zencir S, Unlukurt I, Kahraman I, Topcu.Z.** Oxidative Stress and Apoptosis in Relation to Exposure to Magnetic Field, *Cell Biochem Biophys*, 2011, 59;71–77.
- Erbaş O, Yeniel AO, Akdemir A, Ergenoğlu AM, Yilmaz M, Taskiran D & Peker G,** The Beneficial Effects of Levetiracetam on Polyneuropathy in the Early Stage of Sepsis in Rats: Electrophysiological and Biochemical Evidence, *Journal of Investigative Surgery*, 2013; 26:6, 312-318.
- Eric P. Windmaier, Raff H. Strang K. Vander** İnsan Fizyolojisi (13. Baskı), Prof. Dr. Tuncay ÖZGÜNEN, Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, 2014.
- Erdoğan FF.** New antiepileptic Drugs, *Epilepsi*, 2014;20(Ek 1):56-58.
- Ertaş M.** Periferik Sinirlerin Anatomi Fizyolojisi ve Zararlanmaları, 2000.
- Fatima G, Sharma VP, Das SK and Mahdi AA,** Oxidative stress and antioxidative parameters in patients with spinal cord injury: implications in the pathogenesis of disease, *Spinal Cord*, 2014, 1–4.
- Fernandez D.C., Bhargava R., Hewitt S.M., Levin I.W.,** Infrared spectroscopic imaging for histopathological recognition., *Nat Biotechnol*, 2005; 23(4), 469-474.
- Frahm J, Mattsson MO, Simko M.** Exposure to ELF magnetic fields modulate redox related protein expression in mouse macrophages. *Toxicol Lett*, 2000, 192(3):330–336.
- Freeman, I. W. and Wright, T. W.** Experimental observations of concussion and contusion of the spinal cord. *Ann. Surg.* 1953;137, 433-443.
- Freifelder D** (1982) *Physical Chemistry. Applications to biochemistry and molecular biology*, New York: W. H. Freeman and Company.
- Fujioka N, Morimoto Y, Arai T, Kikuchi M.** Discrimination between normal and malignant human gastric tissues by Fourier transform infrared spectroscopy. *Cancer Detection and Prevention*, 2004, 28; 32–36.
- Garip S, Gozen AC, Severcan F** Use of Fourier transform infrared spectroscopy for rapid comparative analysis of Bacillus and Micrococcus isolates. *Food Chem*, 2009, 113: 1301-1307.
- Gasper R., Dewelle J., Kiss R, Mijatovic T.,** Goormaghtigh E., IR Spectroscopy as a new tool for evidencing antitumor drug signatures, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, 1788, 1263-1270.
- Gazi E., Baker M., Dwyer J., Lockyer N.P., Gardner P., Shanks J.H., Reeve R.S., Hart C.A., Clarke N.W., Brown M.D.,** A correlation of FTIR spectra derived from prostate cancer biopsies with gleason grade and tumor stage, *European Urology*, 2006; 50: 750-761.

- Gensel JC, Tovar CA, Bresnahan JC, Beattie MS** Topiramate Treatment Is Neuroprotective and Reduces Oligodendrocyte Loss after Cervical Spinal Cord Injury. *PLoS ONE* 7(3): e33519. *journal.pone*, 2012;0033519
- Gilman Goodman A, Hardman JG, Limbird LE.** The Pharmacological basis of theurapeutics 9th ed. 1998 59:1465-85.
- Glinka M.** Influence of extremely low-frequency magnetic field on the activity of antioxidant enzymes during skin wound healing in rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2013; 32(4): 463–470.
- Gorgulu T. S., Dogan M., Severcan F.,** A Novel Method In The Characterization of Higher Plants: FTIR Spectroscopic Study of Ranunculus, Acantholimon and Astragalus, *Applied Spectroscopy*, 2007; 61(3), 300-308.
- Goudarzi I, Hajizadeh S, Salmani ME, Abrari K.** Pulsed electromagnetic fields accelerate wound healing in the skin of diabetic rats. *Bioelectromagnetics*, 2010; 31(4):318–323.
- Grana DR, Marcos HJ, Kokubu GA.** Pulsed electromagnetic fields as adjuvant therapy in bone healing and periimplant bone formation: An experimental study in rats. *Acta Odontol Latinoam*, 2008; 21(1):77–83.
- Griebe M., Daffertshofer M., Stroick M., Syren M., Ahmad-Nejad P., Neumaier M., Leskovjan A.C., Kretlow A., Miller L.M.,** Fourier transform infrared imaging showing reduced unsaturated lipid content in the hippocampus of a mouse model of Alzheimer's disease. *Anal Chem*, 2010; 82, 2711-2716.
- Griffin XL, Warner F, Costa M.** The role of electromagnetic stimulation in the management of established non-union of long bone fractures: What is the evidence? *Injury*, 2008; 39(4):419–429.
- Griffiths PR, De Haseth, J. A.** *Fourier transform infrared spectrometry*, 1986, NewYork: Wiley.
- Guyton AC, Hall JE.** Textbook of Medical Physiology (13th edition), Elsevier Inc, A.B.D., 2015; 307-326.
- Gündüz T.** İnstrümental Analiz Kitabı, A.Ü. Fen Fakültesi, Ankara, 1988.
- Hall ED, McCall JM:** A non-glucocorticoid steroid analog of methylprednisolone duplicates its high dose pharmacology in models of central nervous system trauma and neuronal membran damage. *J Pharm Exp Therap*; 1987, 242: 137–142.
- Hall ED, Springer JE.** Neuroprotection and Acute Spinal Cord Injury: A Reappraisal. 2004 *NeuroRx*. 2004 Jan;1(1):80-100.

- Hall ED.** Antioxidant therapies for acute spinal cord injury. *Neurotherapeutics* 2011; 8:152–167.
- Haris P. ve Severcan F.,** FTIR spectroscopic characterization of protein structure in aqueous and non-aqueous media, *J. Molecular Catalysis: B (Enzymatic)*, 1999; 7, 207-221.
- Hu JH, St-Pierre LS, Buckner CA.** Growth of injected melanoma cells is suppressed by whole body exposure to specific spatial-temporal configurations of weak intensity magnetic fields. *Int J Radiat Biol*, 2010; 86(2):79–88.
- Hulbert RJ.** Methylprednisolone for acute spinal cord injury: an inappropriate standard of care, *J Neurosurg.*, 2000; Jul;93(1 Suppl):1-7.
- Jackson M, Ramjiawan B, Hewko M, Mantsch HH** Infrared microscopic functional group mapping and spectral clustering analysis of hypercholesterolemic rabbit liver. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 1998; 44: 89-98.
- John E, Hall.** Tıbbi Fizyoloji (12. Baskı), Prof. Dr. Berrak Çağlayan Yeğen, Prof. Dr. İnci Alican, Prof. Dr. Zeynep Solakoğlu, Nobel Tıp KitapEvi, 2013.
- Johnson AC, McNabb AR, Rossiter RJ,** Chemical Studies of Peripheral Nerve During Wallerian Degeneration, *Biochem.* 1949, 45.
- Kajihara, K., Kawanga, H. and de la Torre, J. C.** Demethyl sulfoxide in the treatment of experimental spinal cord injury. *Surg. Neurol.* 1973;1, 16-22.
- Kalff R., Dietzek B., Popp J.,** Nonlinear microscopy, infrared, and Raman microspectroscopy for brain tumor analysis, *J Biomed Opt*, 2011; 16(2), 021113.
- Kakulas BA:** Pathology of Spinal Injuries. *Cent Nerv Syst Trauma.* 1984; 1 (2):117-129.
- Kaptanoğlu E, Caner HH, Surucu SH. Akbiyik F.** Effect of mexiletine on lipid peroxidation and early ultrastructural findings in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg (Spine 2)* 1999, 91: 200-204.
- Kaptanoğlu E, Tuncel M, Palaoğlu S, Konan A, Demirpençe E, Kılınç K.** Comparison effect of melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg (Spine 1)* 2000; 93: 77–84.
- Kaptanoglu E, Tator CH.** Strategies for neuroprotection after spinal cord injury. *Omurilik ve omurga cerrahisi.* Editörler: M. Zileli, F. Özer. Bölüm 63, sayfa 813- 832, 2002.
- Kaptanoğlu E.** Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi. *Temel Nöroşirurji (Türk Nöroşirurji Derneği Yayınları)* Sayfa 1144-1153. 2005.
- Kayaalp SO.** Glukokortikoidler. *Tıbbi farmakoloji.* 2000; 2:1301-16.
- Kazarian SG, Chan KL** Applications of ATR-FTIR spectroscopic imaging to biomedical samples. *Biochim Biophys Acta*, 2006; 1758: 858-867.

- Keser H.** Manyetik Alan ve Pterostilbenin Renal İskemi ve Reperfüzyona Etkisi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2016, 14-17.
- Kidder R., Ziegler C., Wessels J.M.,** γ -Irradiation and UV-C light-induced lipid peroxidation: A Fourier transform-infrared absorption spectroscopic study, *Int. J. Radiat. Biol.*, 1997; 71(5), 561-571.
- Kneipp J, Lasch P, Baldauf E, Beekes M, Naumann D.** Detection of pathological molecular alterations in scrapie-infected hamster brain by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* 1501, 2000; 189-199.
- Kneipp J, Beekes M, Lasch P, Naumann D** Molecular changes of preclinical scrapie can be detected by infrared spectroscopy. *J Neurosci* , 2000; 22: 2989-2997.
- Koh EK, Ryu BK, Jeong DY.** A 60-Hz sinusoidal magnetic field induces apoptosis of prostate cancer cells through reactive oxygen species. *Int J Radiat Biol.* 2008 Nov;84(11):945-55.
- Kohen R, Nyska A,** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification, *Toxicol Pathol.*, 2002 Nov-Dec;30(6):620-50.
- Komur, M., Okuyaz, C., Celik, Y., Resitoglu, B., Polat, A., Balci Ş, Tamer L, Erdogan S., Beydagi, H.,** Neuroprotective effect of levetiracetam on hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. *Childs Nerv Syst*, 2014; 30:1001–1009.
- Kong QJ, Wang Y, Liu Y, Sun JC, Xu XM, Sun XF, Shi JG,** Neuroprotective Effects of Valproic Acid in a Rat Model of Cauda Equina Injury, *World Neurosurg.* 2017 Dec;108:128-136.
- Koozekanani, S. H., Vise, W. M., Hashemi, R. M. and McGhee, R. B.** Possible mechanisms for observed pathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen. *J. Neurosurg.* 1976; 44, 429-434.
- Koyanagi I, Tator CH.** Effect of a single huge dose of methylprednisolone on blood flow, evoked potentials, and histology after acute spinal cord injury in the rat. *Neurol Res* 19. 1997, 289–299.
- Krafft C., Sergo V.,** Biomedical applications of Raman and infrared spectroscopy to diagnose tissues, *Spectroscopy*, 2006; 20, 195–218.
- Kretlow, A., Wang, Q., Kneipp, J., Lasch, P., Beekes, M., Miller, L. and Naumann, D.** FTIR-microspectroscopy of prion-infected nervous tissue. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006; 1758: 948–959.

- Kretlow A, Wang Q, Beekes M, Naumann D, Miller LM** Changes in protein structure and distribution observed at pre-clinical stages of scrapie pathogenesis. *Biochim Biophys Acta*, 2008., 1782: 559-565.
- Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W:** Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine* 2002; 27(14):1504-1510.
- Kwon, B.K., Okon, E., Hillyer, J., Mann, C., Baptiste, D., Weaver, L.C., Fehlings, M.G., Tetzlaff, W.,** A systematic review of non-invasive pharmacologic neuroprotective treatments for acute spinal cord injury. *J Neurotrauma*, 2011; 28, 1545-1588.
- Lefebvre S, Vartanian T.** Molecular basis of myelination; Disorders of myelin in the central and peripheral nervous system. (Dangond F., eds) Woburn MA, Butterworth Heinemann, 2002; 49-56.
- Levine, S. M., Wetzel D. L. B.** Analysis of brain tissue by FT-IR microspectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 1993; 28: 385-412.
- Levine S.M. ve Wetzel D.L.,** In situ chemical analyses from frozen tissue sections by Fourier transform infrared microspectroscopy. Examination of white matter exposed to extravasated blood in the rat brain., *Am J Pathol.*, 1994; 145(5), 1041–1047.
- Levine S.M., Wetzel D.L.,** Chemical analysis of multiple sclerosis lesions by FT-IR microspectroscopy, *Free Radic Biol Med.*, 1998; 25(1), 33-41.
- Liburdy RP, Callahan DE, Harland J, Dunham E, Sloma TR, Yaswen P.** Experimental evidence for 60 Hz magnetic fields operating through the signal transduction cascade. Effects on calcium influx and c-MYC mRNA induction. *FEBS Lett*, 1993, 334(3):301–308.
- Liquier J. ve Taillandier E.,** Infrared spectroscopy of nucleic acids, *Infrared Spectroscopy of Biomolecules*, Wiley-Liss, Inc., USA, 1996, pp. 131-158.
- Liu K.Z., Bose R., Mantsch H.H.,** Infrared spectroscopic study of diabetic platelets, *Vibrational Spectroscopy*, 2002; 28, 131–136.
- Lin S.Y., Li M.J., Cheng W.T.,** FTIR and Raman vibrational microspectroscopies used for spectral biodiagnosis of human tissues, *Spectroscopy*, 2007; 21:1-30.
- Luckey M.** Membrane Structural Biology. Cambridge University Press. New York, 2008.
- Lukacova N, Jalc P, and Marsala J,** Phospholipid Composition in Spinal Cord Regions after Ischemia/Reperfusion, *Neurochemical Research*, Vol. 23, No. 8, 1998, pp. 1069-1077.
- Lynch B, Lambeng N, Nocka K, Kensel-Hammes P, Bajjellieh SM, Matagne A, Fuks B:** The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. *Proc Natl Acad Sci* 2004, 101, 9861-9866.

Manthey D., Stella Asimiadou, Vanya Stefovskaja, Angela M. Kaindl, Jessica Fassbender, Chrysanthi Ikonomidou T, Petra Bittigau Sulthiame but not levetiracetam exerts neurotoxic effect in the developing rat brain. *Experimental Neurology*, 193, 2005, 497–503.

Mantsch H.H., Biological application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy: A study of phase transitions in biomembranes, *J. Mol. Structure*, 1984; 113, 201-212.

Marko S. Marcov: Magnetic Field Therapy, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2007, 26:1, 1-23.

Marion DW. Head and spinal cord injury. *Neurol.Clin.* 1998; 16(2):485-502.

Maria J. Crowe, Zhong-Ping Sun, Joseph H. Battocletti, Melissa Y. Macias, Frank A. Pintar, Dennis J. Maiman, Exposure to pulsed magnetic fields enhances motor recovery in cats after spinal cord injury. *Spine*, 2003, Volume 28 2660-2666.

Mazhar F, Malhi SM and Simjee SU, Comparative studies on the effects of clinically used anticonvulsants on the oxidative stress biomarkers in pentylenetetrazole-induced kindling model of epileptogenesis in mice, *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2016; aop.

McLeod KJ, Rubin CT. Frequency specific modulation of bone adaptation by induced electric fields. *J Theor Biol*, 1990, 145:385–396.

McLeod KJ, Rubin CT. Effect of low-frequency electrical fields on osteogenesis, *J Bone Joint Surg*, 1992,74A:920–929.

McVeigh, J. F. Experimental cord crushes with especial reference to the mechanical factors involved and subsequent changes in the areas of the spinal cord affected. *Arch. Surg.* 1923;7, 573-600.

Melin AM, Perromat A, Deleris G Pharmacologic application of fourier transform IR spectroscopy: in vivo toxicity of carbon tetrachloride on rat liver. *Biopolymers*, 2000; 57: 160-168.

Melin A.M., Perromat A., Gerard D., Sensitivity of deinococcus radiodurans to γ irradiation: A novel approach by Fourier transform infrared spectroscopy, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2001; 394, 265-274.

Mendelsohn R. ve Mantsch H.H., Fourier transform infrared studies of lipid-protein interaction, *Progress in Protein-Lipid Interactions*, Volume 2, Elsevier Science Publishers, Netherlands, (1986), 103-147.

Meyer T., Bergner N., Bielecki C., Krafft C., Akimov D., Romeike B.F.M., Reichart R., Wang Q, Sanad W, Miller LM, Voigt A, Klingel K, Kandolf R, Stangl K, Baumann G

Infrared imaging of compositional changes in inflammatory cardiomyopathy. *Vib Spectrosc*, 2005; 38: 217-222.

Miryam E., Aida L., Samira M., Mohsen S., Hafedh A. Effect of acute exposure to static magnetic field on ionic composition of rat spinal cord. *Gen. Physiol. Biophys.* 2010, 29, 288-294.

Movasaghia Z, Rehmanb S, Rehmana I. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2008, 43: 2, 134 — 179.

Nara M, Okazaki M, Kagi H. Infrared study of human serum very-low-density and low-density lipoproteins. Implication of esterified lipid C=O stretching bands for characterizing lipoproteins. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2002, 117; 1–6.

Narin F, Hanalioglu S, Ustun H, Kilinc K, Bilginer B, Topiramate as a neuroprotective agent in a rat model of spinal cord injury, *Neural Regen Res*. 2017 Dec;12(12):2071-2076.

Nesathurai S. Steroids and spinal cord injury: revisiting the NASCIS 2 and NASCIS 3 trials. *J Trauma* 1998;45: 1088-1093.

Nilsson M.R., Techniques to study amyloid fibril formation in vitro, *Investigating Protein Folding, Misfolding and Nonnative States: Experimental and Theoretical Methods*, 2004; 34:1, 151–160.

Niranjan TG, Krishnakantha TP Membrane changes in rat erythrocyte ghosts on ghee feeding. *Mol Cell Biochem*, 2000; 204: 57-63.

Novikov VV, Novikov GV, Fesenko EE. Effect of weak combined static and extremely low-frequency alternating magnetic fields on tumor growth in mice inoculated with the Ehrlich ascites carcinoma. *Bioelectromagnetics*, 2009, Jul;30(5):343-51.

Noyer, M., Gillard, M., Matagne, A., Henichart, J. P., & Wulfert, E. The novel antiepileptic drug levetiracetam (ucb L059) appears to act via a specific binding site in CNS membranes. *Eur J Pharmacol*, 1995, 286, 137–146.

Okano H. Effects of static magnetic fields on blood pressure in animals and humans. *Curr. Hypertens*, 2008, Rev. 4, 63e72.

Ohkubo C, Okano H. Clinical aspects of static magnetic field effects on circulatory system. *Environmentalist*, 2011, 31, 97e106.

Oliveira A.A, Almeida J.P, Freitas R.M, Nascimento V.S, Aguiar L.M.V, Junior H.V.N, Fonseca F.N, Viana G.S.B, Sousa F.C.F, and Fonteles M.M.F. Effects of Levetiracetam in Lipid Peroxidation Level, Nitrite–Nitrate Formation and Antioxidant Enzymatic Activity in Mice Brain After Pilocarpine-Induced Seizures, *Cellular and Molecular Neurobiology*, Vol. 27, No. 3, May 2007.

- Olusi SO** Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2002; 26: 1159-1164.
- Ozek NS, Sara Y, Onur R, Severcan F.** Low dose Simvastatin induces compositional structural and dynamical changes on rat skeletal extensor digitorum longus muscle tissue, *Bioscience Reports*, 2009, 6; 30(1), 41-50.
- Ozek NS, Sara Y, Onur R, Severcan F.** Low dose simvastatin induces compositional, structural and dynamic changes in rat skeletal extensor digitorum longus muscle tissue. *Biosci Rep*, 2010a; 30: 41-50.
- Ozek NS, Tuna S, Erson-Bensan AE, Severcan F.** Characterization of microRNA-125b expression in MCF7 breast cancer cells by ATR-FTIR spectroscopy, *Analyst*, 2010(b), 135(12), 3094-3102.
- Ozturk D.** Overektomi Uygulanan Sıçanlarda Periferik Sinir Hasarı Üzerine Selenyumun Etkileri, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, Aydın, 2016, 11-14.
- Palaniappan PL.RM, Pramod K.S,** The effect of titanium dioxide on the biochemical constituents of the brain of Zebrafish (*Danio rerio*): An FT-IR study, *Spectrochimica Acta Part A* 79 (2011) 206–212.
- Park J, Kim Ğ, Oh J, Lee K W.** Activation of c-Jun- N- terminal Kinase antagonizes an anti-apoptotic action of Bcl-2. *The AMERICAN Society for Biochemistry and Molecular Biology* VOL. 272, Number 27, 1997; pp. 16725- 16728. July 4.
- Pathalos Philip N.** Clinical Pharmacokinetics of Levetiracetam. *Clin. Pharmacokinet* 2004; 43(11):707-724.
- Patsalos PN.** Elsevier Pharmacokinetic profile of levetiracetam: toward ideal characteristics, *Pharmacology and Therapeutics* 85 ,2000; 77–85 0163-7258/00.
- Pehlivan F.** Biyofizik, (9. Baskı), Pelikan yayınevi, Ankara, 2017, syf: 69-103.
- Pelton J.T. ve McLean L.R.,** Spectroscopic Methods for Analysis of Protein Secondary Structure, *Analytical Biochemistry*, 277:2, pp. 167-176, (2000).
- Ramesh J., Kapelushnik J., Mordehai J., Moser A., Huleihel M., Erukhimovitch V.,** Novel methodology for the follow-up of acute lymphoblastic leukemia using FTIR microspectroscopy, *Journal of biochemical and biophysical methods*, 51, 251-261, (2002).
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM.** Glukokorticoids. *Pharmacology* 5th ed. 2003; 27:410-20.

Richard E, Klabunde PhD. Cardiovascular Physiology Concepts. Professor of Physiology Marian University College of Osteopathic Medicine Indianapolis, Indiana Revised 4/14/14 2011.

Richard S, Snell, MD, Ph.D. Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Klinik Nöroanatomi (7. Baskı), Prof. Dr. Mehmet YILDIRIM, Nobel Tıp Kitepevi, Ankara, 2011.

Rodin YP. Static magnetic fields and physical-mechanical properties of polymer sea review. *Mech. Compos. Mater*, 1991, 27, 331-341.

Rollwitz J, Lupke M, Simko M. Fifty-hertz magnetic fields induce free radical formation in mouse bone marrow derived promonocytes and macrophages. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1674(3):231–238.

Ross CL, Syed I, Thomas L. Smith & Benjamin S. Harrison The regenerative effects of electromagnetic field on spinal cord injury, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2016.

Ross MH, Pawlina W. Histology. A text and atlas. Baltimore, Philadelphia, 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

Samano JM, Torres-Duran PV, Juarez-Oropeza MA, Elias-Vinas D & Verdugo-Diaz L, Effects of acute electromagnetic field exposure and movement restraint on antioxidant system in liver, heart, kidney and plasma of Wistar rats: A preliminary report, *Int. J. Radiat. Biol.*, Vol. 86, No. 12, December 2010, pp. 1088–1094.

Samancı N, Balcı N. Kortikosteroidler ve klinikte kullanımı. T klin tıp bilimleri 2006; 21:131-40.

Schmidt M, Wolfram T, Rumpler M, Tripp CP, Grunze M. Live cell adhesion assay with attenuated total reflection infrared spectroscopy. *Biointerphases*, 2007, 2; 1-5.

Sen I, Bozkurt O, Aras E, Heise S, Brockmann GA, Severcan F. Lipid Profiles of Adipose and Muscle Tissues in Mouse Models of Juvenile Onset of Obesity Without High Fat Diet Induction: A Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopic Study. *Applied Spectroscopy*, 2015, Volume 69 (6); 679-688.

Sencer A, Aras Y, Akçakaya MO, Gömleksiz C, Can H, Canbolat A. Effects of combined and individual use of N-methyl-D aspartate receptor antagonist magnesium sulphate and caspase-9 inhibitor z-LEDH-fmk in experimental spinal cord injury. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2013;19(4): 313-19.

Severcan F., Toyran N., Kaptan N., and Turan B., FTIR study of the effect of diabetes on rat liver and heart tissues in the C-H region, *Talanta*, 2000, 53, 55-59.

- Severcan F., Gorgulu G., Gorgulu T.S., Guray T.** Rapid monitoring of Diabetes-Induced Lipid peroxidation by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Analytical Biochemistry*, 2005, 339, 36-40.
- Severcan F., Bozkurt O., Gurbanov R., Gorgulu G.** FT-IR spectroscopy in diagnosis of diabetes in rat animal model, *J. Biophotonics* 3, 2010, no 8–9: 621–631.
- Smith, B.** Infrared Spectral Interpretation. CRC Press, Boca Raton, 1999; 0849324637, London, New York, Washington; DC.
- Simske SJ, Wachtel H, Luttgies MW.** Effect of localized pulsed electromagnetic fields on tail-suspension osteopenia in growing mice. *Bioelectromagnetics*, 1991, 12:101–116.
- Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA.** Enstrümantal Analiz (5.Baskı), Bilim Yayıncılık, Ankara, 1998.
- Spector AA, Yorek MA** Membrane lipid composition and cellular function. *J Lipid Res* 26:1985, 1015-1035.
- Stuart, 1997 Stuart B** (1997) *Biological Applications of Infrared Spectroscopy*, England: John Wiley and Sons, Ltd.
- Stuart B.** Infrared Spectroscopy Fundamentals and Applications Analytical Techniques in the Sciences. England: John & Sons, Ltd. 2004.
- Svennerholm L, Boström K, Fredman P, Jungbjer B, Mansson JE and Rynmark BM,** Membrane lipids of human peripheral nerve and spinal cord, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1128, 1992, 1-7.
- Szalontai B, Nishiyama Y, Gombos Z, Murata N.** Membrane dynamics as seen by Fourier transform infrared spectroscopy in a cyanobacterium, *Synechocystis* PCC 6803 The effects of lipid unsaturation and the protein-to-lipid ratio, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, 1509; 409-419.
- Szalontai B** Membrane protein dynamics: limited lipid control. *PMC Biophys*, 2009, 2: 1.
- Szcerbowska-Boruchowska, M., Dumas, P., Kastyak, M.Z., Chwiej, J., Lankosz, M., Adamek, D., Krygowska-Wajs, A.** Biomolecular investigation of human substantia nigra parkinson's disease by synchrotron radiation fourier transform infrared microspectroscopy. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2007, 459: 241–248.
- Takahashi H., French S.W., Wong P.T.T,** Alterations in hepatic lipids and proteins by chronic ethanol intake: A high pressure Fourier transform infrared spectroscopic study on alcoholic liver disease in the rat, *Alcoholism-Clinical and Experimental Research*, 1991, 15, 219–223.

- Tarlov, I. M., Klinger, H. and Vitale, S.** Spinal cord compression studies: I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat.* 1953;70, 813-819.
- Tator CH:** Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 1991; 37: 291-302.
- Thompson, J. E.** Pathological changes occurring in the spinal cord following fracture dislocation of the vertebrae. *Ann. Surg.* 1923;78, 260-293.
- Toyran N, Lasch P, Naumann D, Turan B, Severcan F** Early alterations in myocardia and vessels of the diabetic rat heart: an FTIR microspectroscopic study. *Biochem J*, 2006; 397: 427-436.
- Trojnar MK, Maek R, Chrooecinska M, Nowak S, Baszczyk B, Czuczwar SJ,** Neuroprotective Effects Of Antiepileptic Drugs, *Pol. J. Pharmacol.*, 2002, 54, 557-566.
- Tuma RF; Vasthare US, Arforks KE, Young WF.** Hypertonic saline administration attenuates spinal cord injury. *J Trauma* 1997; 42:54-60.
- Turker S, Ilbay G, Severcan M, Severcan F,** Investigation of Compositional, Structural, and Dynamical Changes of Pentylene-tetrazol-Induced Seizures on a Rat Brain by FT-IR Spectroscopy, *Anal. Chem.* 2014, 86, 1395–1403.
- Tüzgen S,** Medulla spinalis yaralanmalarında farmakolejik terapi, <http://www.ctf.edu.tr/stek/pdfs/39/3919.pdf>, 01.02.2018.
- Umemura J., Cameron D.G., Mantsch H.H.,** A Fourier transform infrared spectroscopic study of the molecular interaction of cholesterol with 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, *Biochim Biophys Acta.*, 16;602(1), 32–44, (1980).
- Vander,** İnsan Fiziyojisi, 2014.
- Wang J., ve Zhang G.J.,** Influence of membrane physical state on lysosomal potassium ion permeability, *Cell Biology International*, 29, 393–401, (2005).
- Watanabe Y, Nakagawa M, Miyakoshi Y.** Enhancement of lipid peroxidation in the liver of mice exposed to magnetic fields. *Ind Health*, 1997 Apr;35(2):285-90.
- Watts A. ve De Pont J.J.H.H.M.,** Progress in protein–lipid interactions, vol. 2, Amsterdam, 1986, pp. 103–147.
- Widmaier EP, Raff H, Strang KT.** Neuronal signaling and the structure of the nervous system. In Widmaier EP (ed). *Human Physiology*. New York: Mcgraw- Hill Companies, 2004:176-99.
- Williamson S.J. and Kaufman L.** Biomagnetism..*J. Magn. Magn.Mater.* 1981, 22 (2), 129–202.

Willis WD. Nervous System. In Berne RM, Levy MN (eds). Principles of Physiology. St. Louis: Mosby Inc., 2000:112-31.

Wong PT, Wong RK, Caputo TA, Godwin TA, Rigas B Infrared spectroscopy of exfoliated human cervical cells: evidence of extensive structural changes during carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991; 88: 10988-10992.

Xarchas K, Bourandas J. Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* 2003;28(13):1481-1484.

Yan QC, Tomita N, Ikada Y. Effects of static magnetic field on bone formation of rat femurs. *Med Eng Phys*, 1998, 20:397–402.

Yano K., Sakamoto Y., Hirosawa N., Tonooka S., Katayama H., Kumaido K., Satomi A., Applications of Fourier transform infrared spectroscopy, Fourier transform infrared microscopy and near-infrared spectroscopy to cancer research, *Spectroscopy*, 2003, 17(2-3), 315-321.

Yıldız A, Genç Ö, Bektaş S. Enstrumental Analiz Yöntemleri, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 1997.

Zwart, L. L., Meerman, J. H. N., Commandeur, J. N. M., Vermeulen, N. P. E. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biol. Medicine*, 1999, 26: 202–226.

EKLER

A. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul İzni (ADÜ-HADYEK)



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 27 Temmuz 2016

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2016 Yılı VI. Oturumu
Sayı : 64583101/2016/122
Proje Başlığı : Deneysel Spinal Kord Yaralanmasında Levetirasetam ve Manyetik Alanın Tedavi Edici Etkilerinin İncelenmesi
Proje Yürütücüsü : Özlem BOZKURT GİRİT
Proje Ekibi : Mehmet Dinçer BİLGİN, Mehmet BİLGİN, Mehmet Melih PINARBAŞI

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötusu kullanılması
İnsan embriyosu ve fötusu dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

(Değerlendirmede Bulunmadı)
Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN

Başkan

Prof. Dr. Deniz COBAN
Üye

Vet. Hek. Serdar AKTAŞ
Üye

Prof. Dr. Turhan DOST
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Yücel KOCA
Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Vet. Hek. Atilla M. UÇMAKLIOĞLU
Üye

Prof. Dr. İşıl SÖNMEZ
Üye

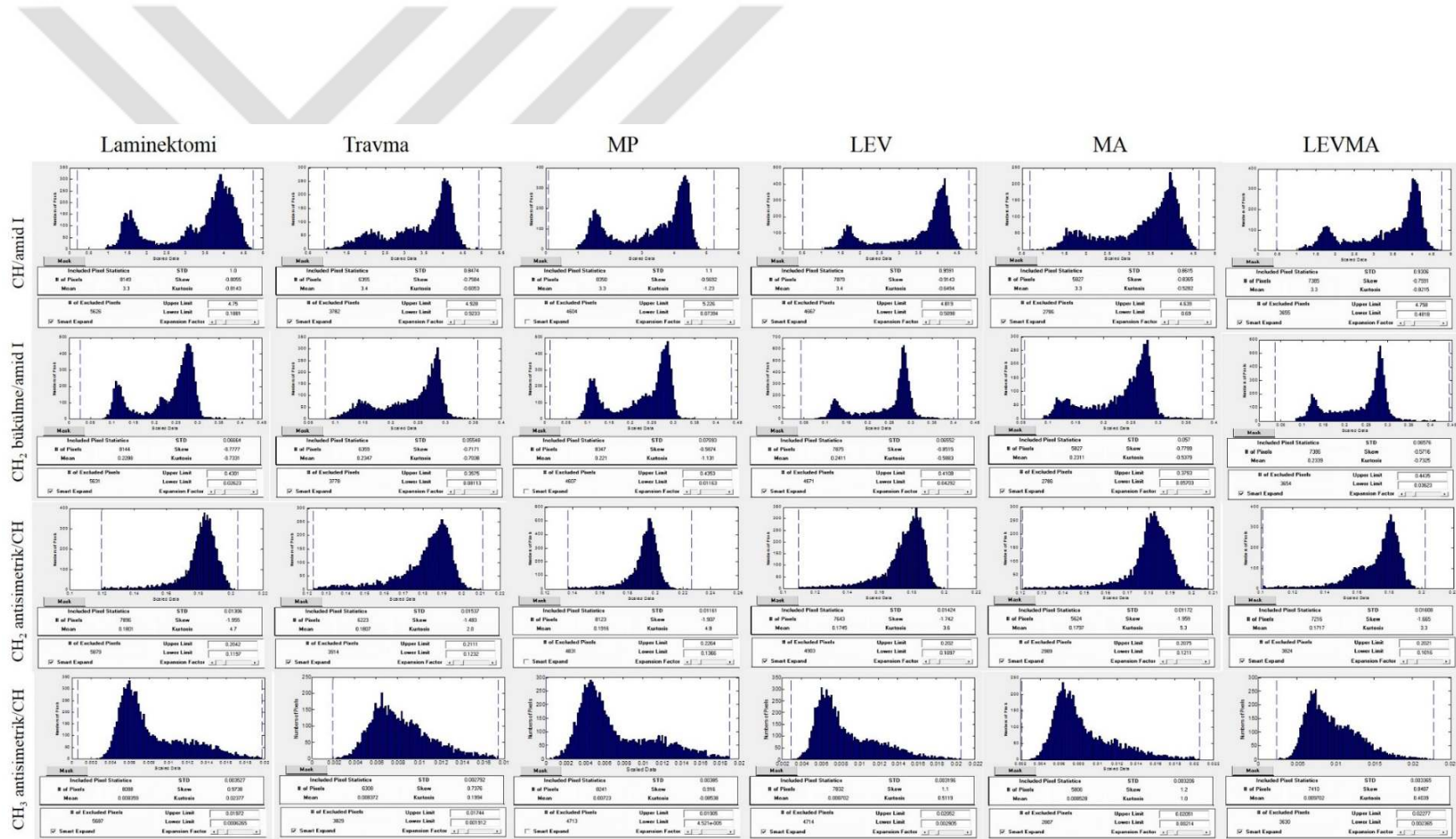
Yrd. Doç. Dr. Evrim DERELİ FİDAN
Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Yurdağül ALTINBAŞ
Üye

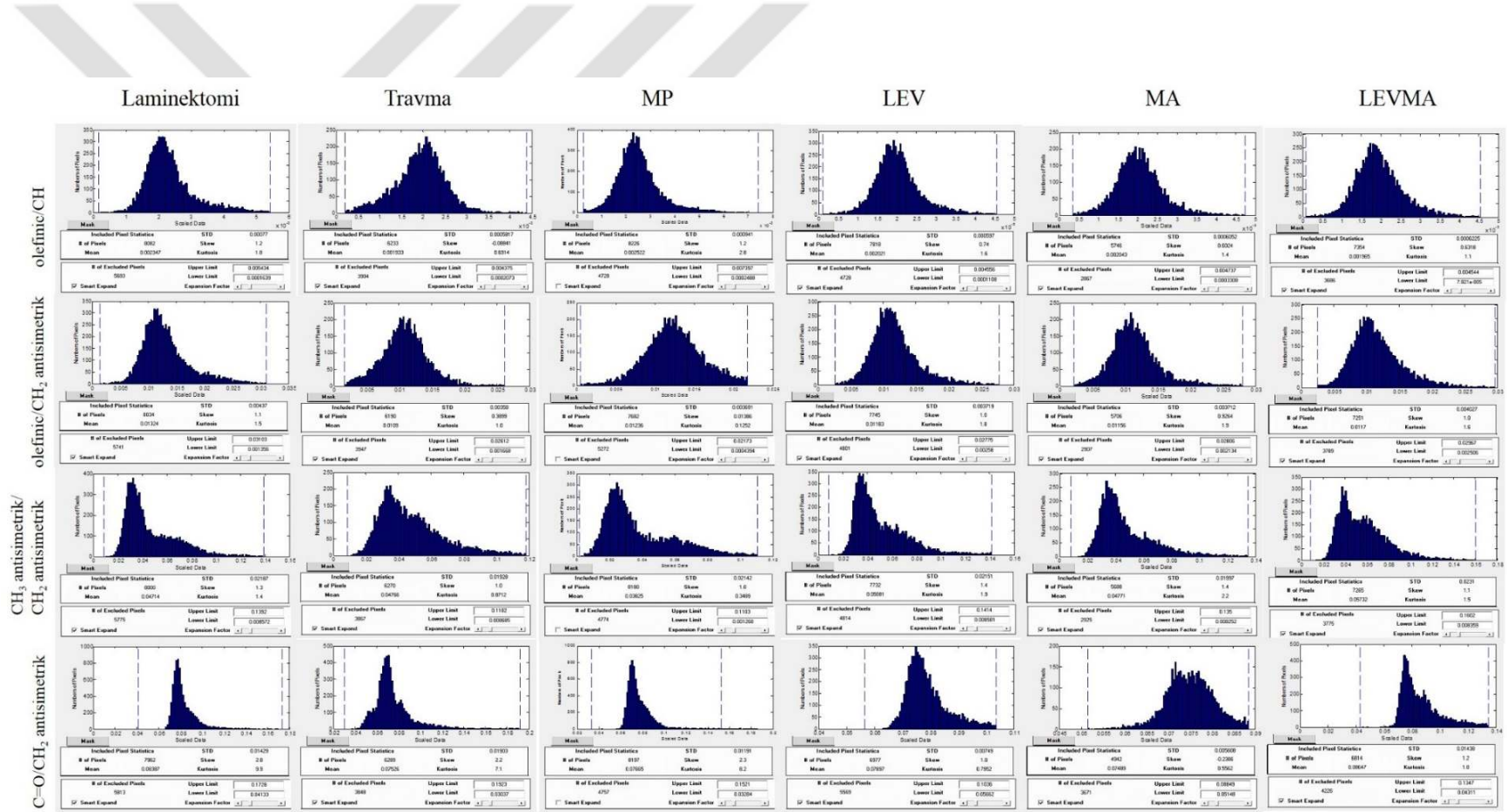
B. FTIR Mikrospektroskopik Görüntüleme Veri Analizi Sonucu Elde Edilen Histogramlar

Tüm çalışma gruplarına ait spinal kord kesitlerinden 25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu kullanılarak elde edilen spektral haritalardan hesaplanan bazı bant alan oranlarını temsil eden histogramlar Şekil B.1.-B.4.'te, 6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu kullanılarak elde edilen spektral haritalardan hesaplanan bazı bant alan oranlarını temsil eden histogramlar ise Şekil B.5.-B.8.'de gösterilmektedir.

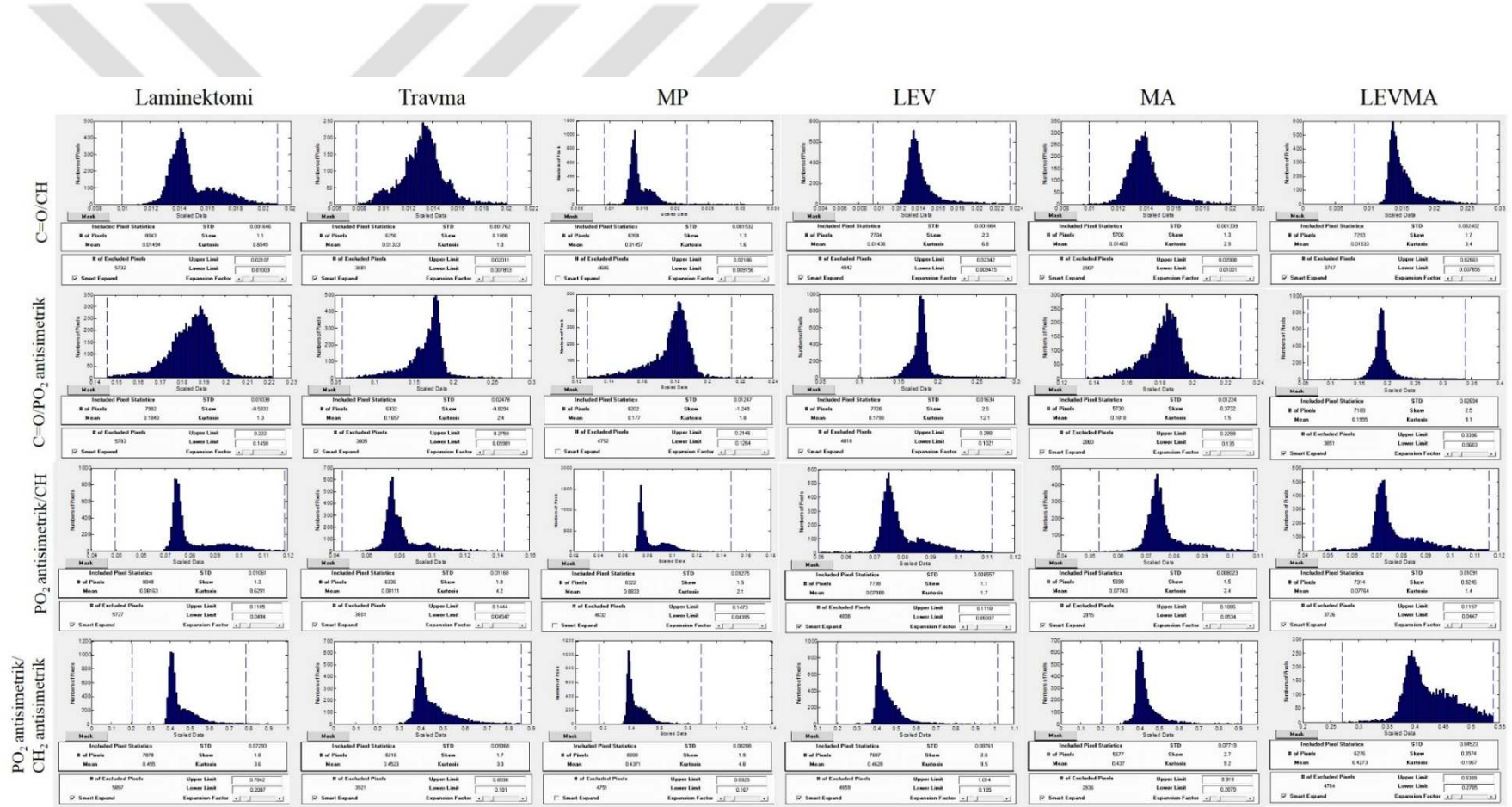




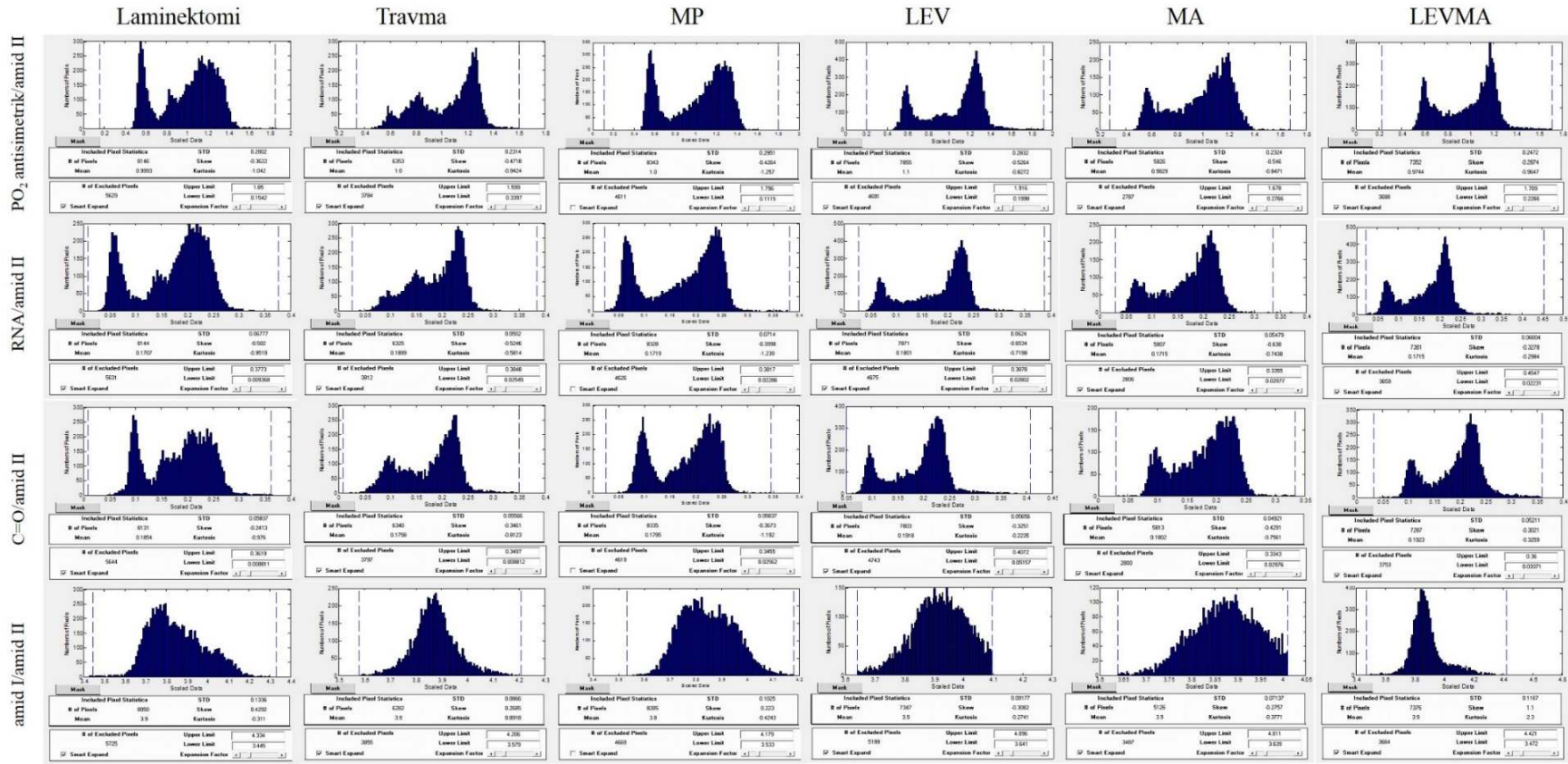
Şekil B.1. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipid/protein değerinin değişimlerini gösteren CH gerilim/amid I ve CH₂ bükülme/amid I alan oranlarına ve etil grup miktarını gösteren CH₂ antisimetrik gerilim/CH gerilim ve lipidlerdeki metil grup miktarını gösteren CH₃ antisimetrik gerilim/CH gerilim alan oranlarına ait histogramlar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).



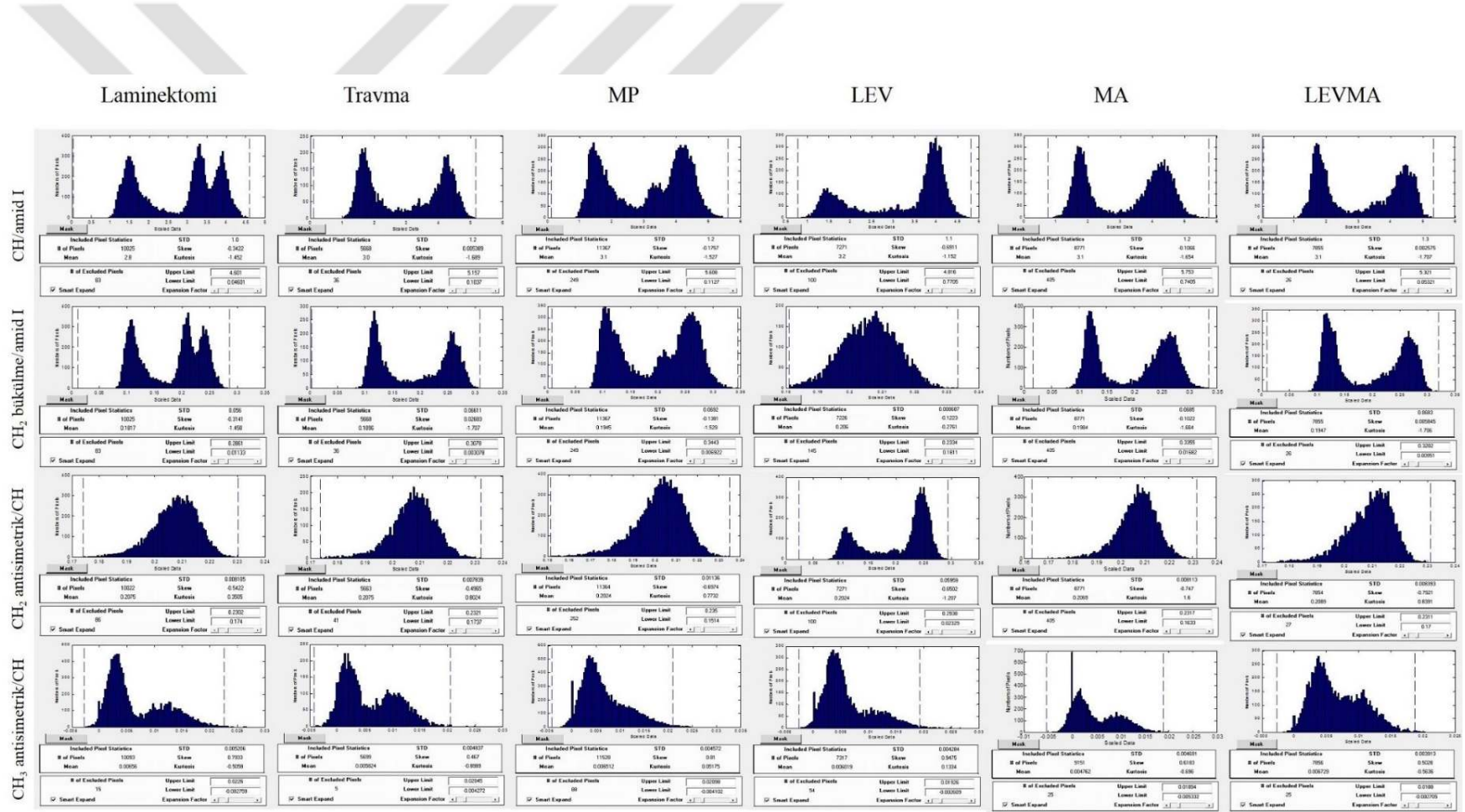
Şekil B.2. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki doymamış lipit miktarını gösteren olefinik/CH gerilim ve doymamış-doymuş lipit oranını gösteren olefinik/CH₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ve lipitlerdeki ester grubu içeren lipit miktarını gösteren C=O ester/CH₂ antisimetrik gerilim ve hidrokarbon zincir uzunluğunu gösteren CH₃ antisimetrik/CH₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek histogramlar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).



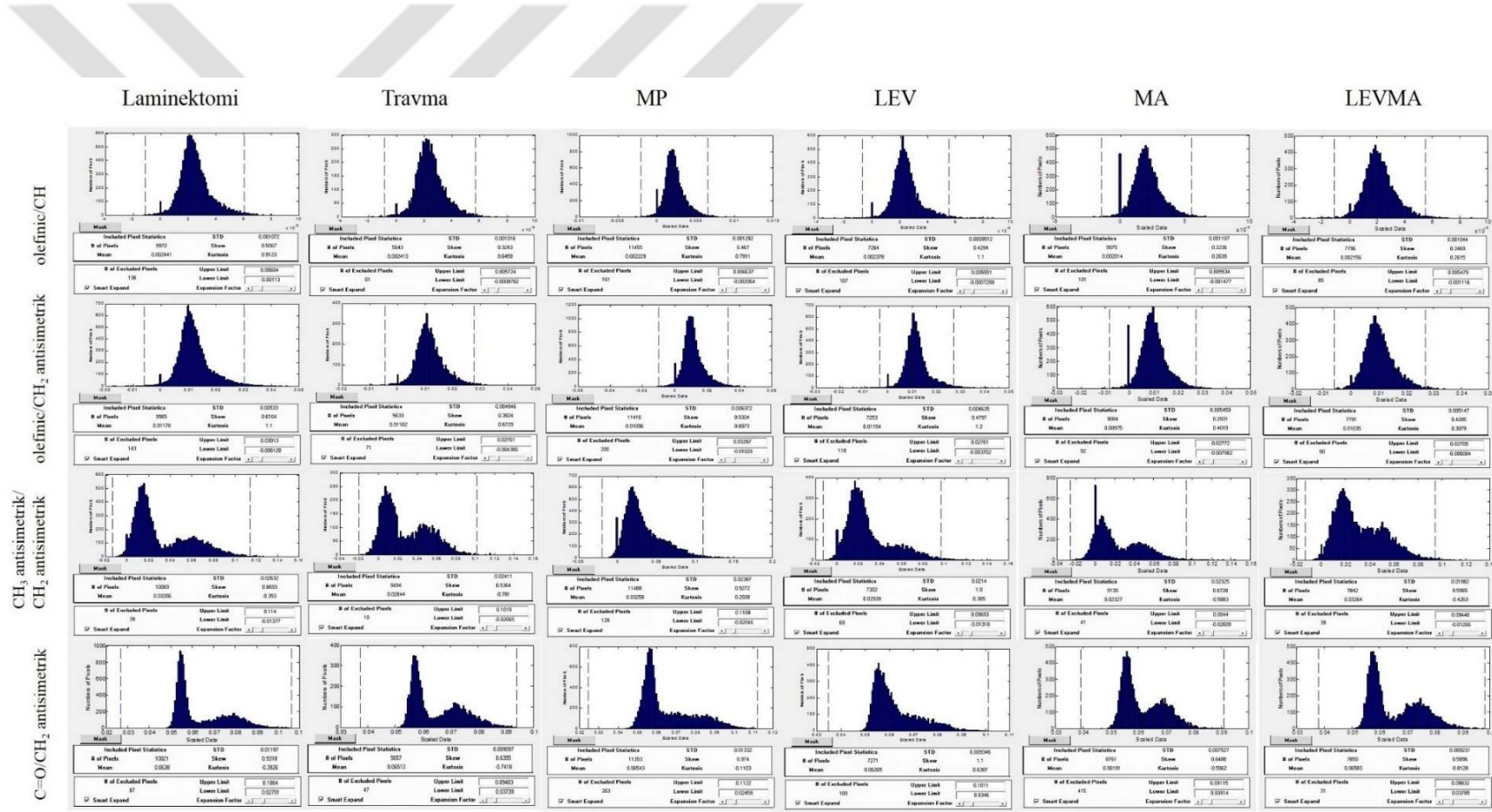
Şekil B.3. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki fosfat grubu içeren lipid miktarını gösteren PO₂ antisimetrik gerilim/CH gerilim ve fosfat grubu içeren lipid miktarını gösteren PO₂ antisimetrik gerilim/CH₂ antisimetrik gerilim oranlarına ve karbonil miktarını gösteren C=O ester/CH gerilim ve fosfat grubu içermeyen lipid içeriğini gösteren C=O ester/PO₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek histogramlar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).



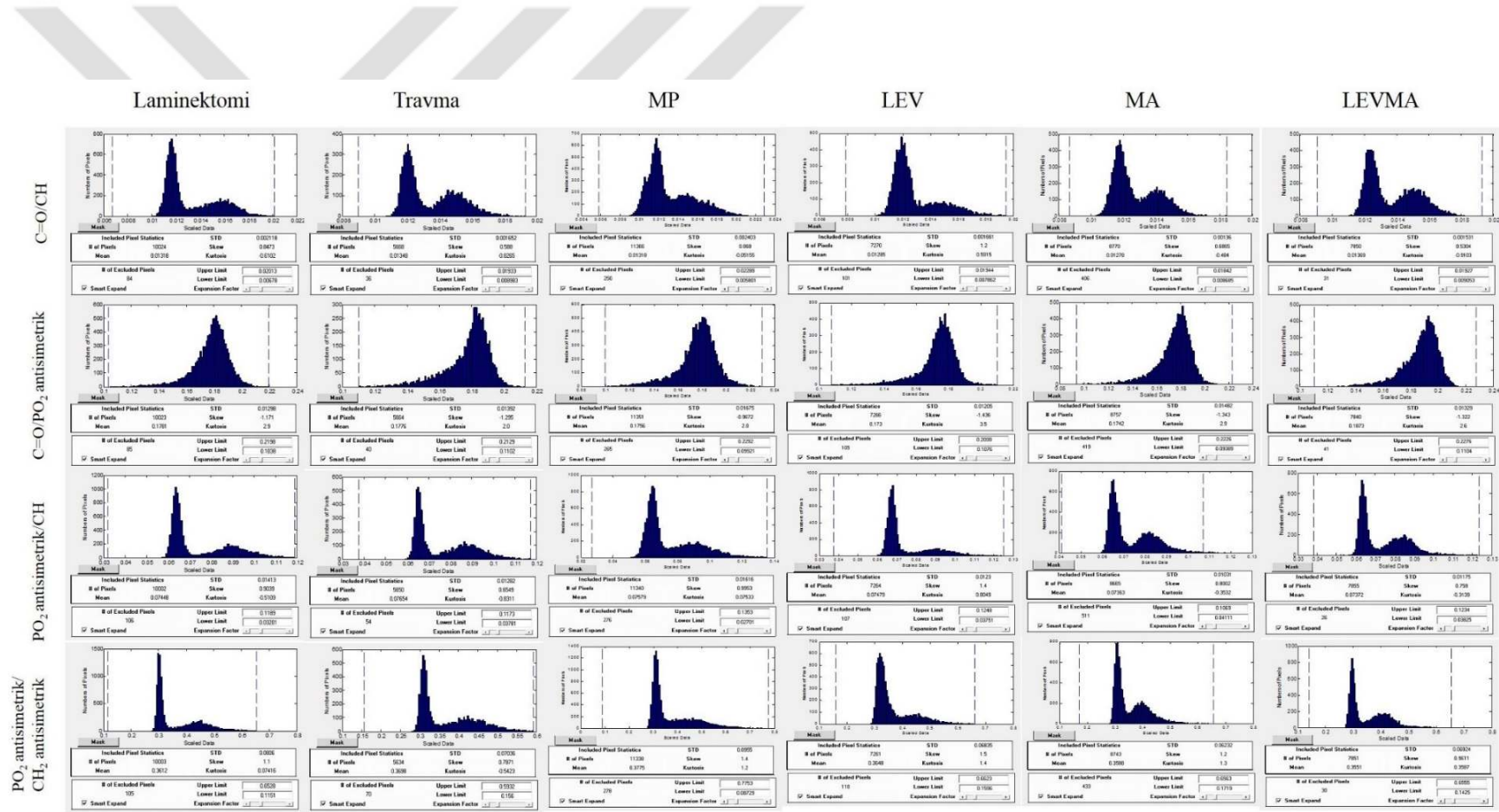
Şekil B.4. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki protein ikincil yapı değişimlerini gösteren amid I/amid II ve lipit yıkım düzeyini gösteren C=O ester gerilim/amid II alan oranlarına ve nükleik asit protein oranını gösteren PO₂ antisimetrik gerilim/amid II ve nükleik asit protein oranını gösteren RNA/amid II alan oranlarına ait örnek histogramlar (25 x 25 µm IR dedektör piksel boyutu).



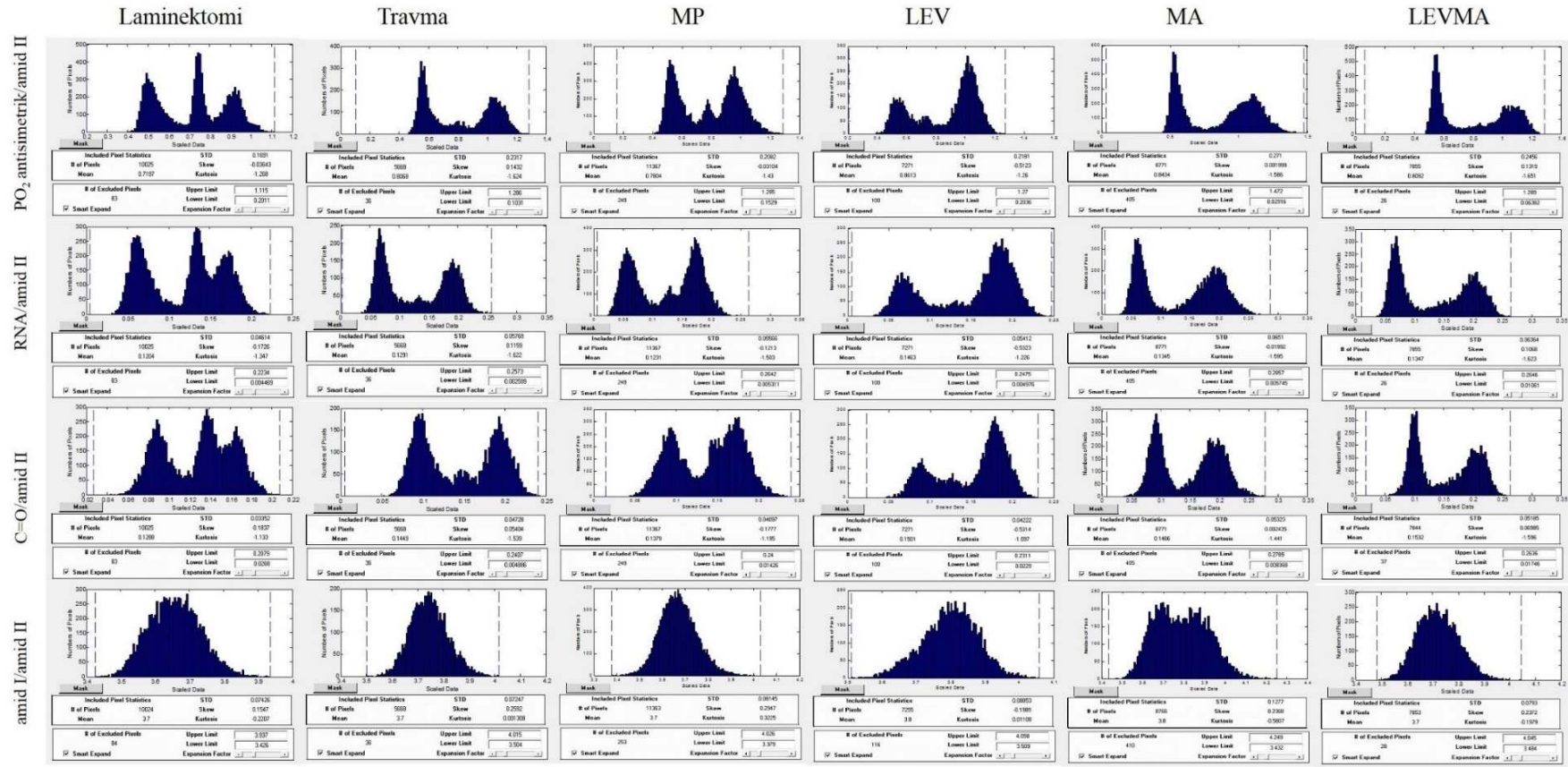
Şekil B.5. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki lipit/protein değerinin değişimlerini gösteren CH gerilim/amid I ve CH₂ bükülme/amid I alan oranlarına ve etil grup miktarını gösteren CH₂ antisimetrik gerilim/CH gerilim ve lipitlerdeki metil grup miktarını gösteren CH₃ antisimetrik gerilim/CH gerilim alan oranlarına ait histogramlar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).



Şekil B.6. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki doymamış lipit miktarını gösteren olefinik/CH gerilim ve doymamış-doymuş lipit oranını gösteren olefinik/CH₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ve lipidlerdeki ester grubu içeren lipit miktarını gösteren C=O ester/CH₂ antisimetrik gerilim ve hidrokarbon zincir uzunluğunu gösteren CH₃ antisimetrik/CH₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek histogramlar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).



Şekil B.7. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki fosfat grubu içeren lipit miktarını gösteren PO₂ antisimetrik gerilim/CH gerilim ve fosfat grubu içeren lipit miktarını gösteren PO₂ antisimetrik gerilim/CH₂ antisimetrik gerilim oranlarına ve karbonil miktarını gösteren C=O ester/CH gerilim ve fosfat grubu içermeyen lipit içeriğini gösteren C=O ester/PO₂ antisimetrik gerilim alan oranlarına ait örnek histogramlar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).



Şekil B.8. Tüm gruplara ait spinal kord kesitlerindeki protein ikincil yapı değişimlerini gösteren amid I/amid II ve lipid yıkım düzeyini gösteren C=O ester gerilim/amid II alan oranlarına ve nükleik asit protein oranını gösteren PO₂ antisimetrik gerilim/amid II ve nükleik asit protein oranını gösteren RNA/amid II alan oranlarına ait örnek histogramlar (6,25 x 6,25 µm IR dedektör piksel boyutu).

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Pınarbaşı Mehmet Melih

Uyruk :

Doğum yeri ve tarihi

Telefon

E-mail

Yabancı Dil

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik (Tıp) Anabilim Dalı	-
Lisans	Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Opsiyonu	11.09.2014

1. PROJELER

Deneysel omurilik yaralanmasında antiepileptik bir ajan olan levetirasetam ve manyetik alanın tedavi edici etkinliklerinin incelenmesi, ADÜ BAP projesi, Proje No: TPF-17041, Süre: 2017-2018.