

T.C

AMASYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL SPİNAL KORD HASARINDA METİLPREDNİSOLON VE
BARDOXOLONE METHYL'İN AKUT DÖNEMDE NÖROPROTEKTİF OLARAK
KARŞILAŞTIRMALI ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. CANER GÜRKAN

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. AHMET GÖKYAR

AMASYA

2025

KABUL VE ONAY

TEZ ONAY SAYFASI

Dr. Caner GÜRKAN tarafından hazırlanan “RATLARDA DENEYSEL SPİNAL KORD HASARINDA METİLPREDNİSOLON VE BARDOXOLONE METHYL’İN AKUT DÖNEMDE NÖROPROTEKTİF OLARAK KARŞILAŞTIRMALI ARAŞTIRILMASI” başlıklı çalışma aşağıda jüri tarafından .../.../2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile Amasya Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin Ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri

Danışman: Prof.Dr. Ahmet GÖKYAR

Üye: Doç. Dr. Faruk TONGA

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Semih AKAR

İmza

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Tıpta Uzmanlık Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini ve yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

.../.../2025

Prof. Dr. Cafer POLAT

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Nöroşirurji eğitimim boyunca iyi bir hekim olmam için desteklerini esirgemeyen, benim bu mesleği en doğru şekilde öğrenmeme olanak sağlayan başta bölüm başkanımız ve tez danışmanım Prof. Dr. Ahmet GÖKYAR ve eğitim sorumlumuz Doç. Dr. Faruk TONGA olmak üzere; Doç.Dr Sinan BAHADIR,Dr. Öğr. Üyesi Semih AKAR, Op. Dr Ahmet ÇAKIR'a, ayrıca çalışmanın histopatolojik incelemelerini yapan Dr. Esin Seren DİRKEN'e sonsuz teşekkür ederim.

Asistanlığım boyunca birlikte çalışma şansı bulduğum değerli mesai arkadaşlarım Arş.Gör.Dr Can Berk AKTEN, Arş. Gör. Dr Enes KAAN TAŞOVA'ya, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve bizden desteklerini esirgemeyen servis sekreterimiz Muharrem Selim Şahin'e, hemşire ve sağlık personeli ekibe ayrıca teşekkür ederim.

Tez süresince bana desteğini esirgemeyen dostum Uzm. Dr. Burak Eroğlu'na teşekkür ederim.

Hekimlik maceramın her aşamasında yanımda olan, desteklerini esirgemeyen babam Yusuf GÜRKAN, halam Nurhan UYANIK ve kardeşim Duygu GÜRKAN'a, asistanlığım boyunca beraber çalıştığım halam Sultan GÜRKAN'a minnetlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR.....	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
RESİM LİSTESİ	x
ÖZET.....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 SPİNAL KORD EMBRİYOLOJİSİ	3
2.2 SPİNAL KORD MAKROSKOPİK ANATOMİ.....	4
2.3 SPİNAL KORD KESİTSEL ANATOMİ.....	5
2.4 SPİNAL KORD VASKÜLER YAPISI	7
2.5 SPİNAL KORD HASARI PATOLOFİZYOLOJİSİ	8
2.5.1 PRİMER HASAR FAZİ	8
2.5.2 SEKONDER HASAR FAZİ	9
2.5.3. SPİNAL KORD HASARI NÖROLOJİK SINIFLAMASI.....	12
2.5.4 TEDAVİ PROTOKOLLERİ	15
2.5.4.1 METİLPREDNİSOLON	16
2.5.4.2 BARDOXOLONE METHYL.....	17

3. MATERİYAL VE METOD	19
3.1 DENEY GRUPLARI.....	19
3.2 ANESTEZİ	20
3.3 CERRAHİ TEKNİK.....	20
3.4 İLAÇ UYGULAMASI.....	22
3.5 SAKRİFİKASYON	22
3.6 NÖROLOJİK MUAYENE.....	22
3.7 BİYOKİMYASAL ANALİZ.....	23
3.7.1 DOKU VE SERUMDA TAS/TOS/OSİ ÇALIŞMA PRENSİBİ.....	23
3.7.1.1 TAS ÇALIŞMA PRENSİBİ	23
3.7.1.2 TOS ÇALIŞMA PRENSİBİ.....	24
3.7.1.3 OSİ ÇALIŞMA PRENSİBİ.....	24
3.8 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME.....	24
3.8.1 HEMATOKSİLEN-EOZİN BOYAMA YÖNTEMİ.....	24
4. BULGULAR	25
4.1 HİSTOPATOLOJİK BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ	25
4.2 BİYOKİMYASAL BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL ANALİZ	34
4.3 NÖROLOJİK BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ.....	43
7. KAYNAKLAR.....	44

KISALTMALAR

ADP: Adenozin Difosfat

AMP: Adenozin Monofosfat

AMPA: amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate-kainate

ATP: Adenozin Trifosfat

BARD: Bardoxolone Methyl

BCA: Bicinchoninic Acid

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

C: Servikal

Ca⁺²: Kalsiyum

CDDO: 2-siyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oik asit

COX-1: Siklooksijenaz-1

COX-2: Siklooksijenaz-2

CSPG: Kondroitin sülfat proteoglikanlar

GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı

GM-1: Monosialotetrahexosylganglioside

HO-1: Hemooksijenaz-1

IL-10: İnterlökin-10

ISNCSCI: International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury

L: Lomber

MAI: Myelin ile ilişkili inhibitörler

mTOR: Mammalian Target of Rapamycin

NASCIS II: National Acute Spinal Cord Injury Study

NF- κ B: Nuclear Factor kappa B

Nfr-2: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2

Nfr2/Keap1: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2/ Kelch-like ECH-associated protein 1

NGF: Sinir Büyüme Faktörü

NMDA: N-methyl-D-aspartate

OSI: Oksidatif Stres Indexi

T: Torakal

TAS: Total Antioksidan Kapasite

TGF- β : Transformasyon Büyüme Faktörü-beta

TNF- α : Tümör nekrozis faktör-alfa

TOS: Total Oksidan Kapasite

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Spinal kord hasarı için kullanılan bazı ilaçların klinik çalışmaları	15
Tablo 2. NASCIS araştırma sonuçları	17
Tablo 3. Grupların parametrelere göre medyan değerleri ve gruplar arası p değerleri	28
Tablo 4. Gruplar arası parametrelerin istatistiksel karşılaştırılması	28
Tablo 5. Dokuların gruplara göre serumda TAS/TOS/OSI değerleri	35
Tablo 6. Verilerin Shapiro-Wilk ile analizi	36
Tablo 7. Kruskal-Wallis TAS/TOS/OSI p değerleri	36
Tablo 8. Post-hoc Dunn testi ile verilerin ikili analizi	37
Tablo 9. BCA protein protokolü kullanılarak yapılan havuzlama işlemi sonrası değerler	38
Tablo 10. Modifiye Tarlov Skorlaması istatistiksel analiz	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Sinir Sistemi Embriyolojik Gelişimi.....	4
Şekil 2. Spinal segmentler.....	6
Şekil 3. Spinal kord aksiyal kesit görünümü.....	6
Şekil 4. Spinal arterler.....	8
Şekil 5. Spinal venler	8
Şekil 6. Posttravmatik Zone' lar	9
Şekil 7. ASIA skorlaması	13
Şekil 8. ASIA skorlaması	13
Şekil 9. Anahtar olmayan kas grupları	14
Şekil 10. ASIA sınıflaması	14

RESİM LİSTESİ

Resim-1 Torakal bölge geniş traşlama sonrası.....	21
Resim-2 Spinal kord klempleme sonrası	21
Resim-3.1 Kontrol Grubu (1.Grup)	29
Resim-3.2 Kontrol Grubu (1.Grup)	29
Resim-4.1 Bardoxolone Grubu (2.Grup)	30
Resim-4.2 Bardoxolone Grubu (2.Grup)	30
Resim-5.1 Metilprednisolon Grubu (3.Grup)	31
Resim-5.2 Metilprednisolon Grubu (3.Grup)	31
Resim-6.1 Bardoxolone+Metilprednisolon Grubu (4.Grup)	32
Resim-6.2 Bardoxolone+Metilprednisolon Grubu (4.Grup)	32
Resim-6.3 Bardoxolone+Metilprednisolon Grubu (4.Grup)	33

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda spinal kord hasar mekanizmasının sekonder fazında Bardoxolone Methyl bileşiğinin nöroprotektif etkinliğini Metilprednisolon ile fonksiyonel, biyokimyasal ve histopatolojik parametreler ile kıyaslanması amaçlanmıştır.

Gereç Ve Yöntem: 4 farklı grupta, her grupta 7'şer rat olacak şekilde ayrıldı. Anevrizma klipsi ile spinal kord iskemi modeli çalışıldı. Gruplarda; 1.gruba sadece travma oluşturuldu. 2. Grupta iskemi sonrası Bardoxolone Methyl 30 mg/kg intraperitoneal uygulandı. 3. Grupta iskemi sonrası 30 mg/kg Metilprednisolon intraperitoneal uygulandı. 4. Grupta ise her iki bileşik 30 mg/kg iskemi sonrası intraperitoneal uygulandı. Fonksiyonel motor muayenede Modifiye Tarlov skorlaması kullanıldı. Kan ve dokularda Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidan Kapasite, Oksidatif Stres indeksi ve dokularda histopatolojik inceleme çalışıldı. Histopatolojik incelemede histopatolojik skor oluşturuldu. Patolojik skor oluşturulurken Nekroz, Ödem, Nöron Kaybı, Hemoraji, Konjesyon parametreleri ele alındı. Oluşturulan skorların grup başına medyan değerleri alındı. (0=yok, 1= Çok az, 2=Az, 3=Orta, 4=Ciddi)

Bulgular: Histopatolojik incelenen dokularda; 1.grupta patolojik skor en yüksekti. 4. Grupta patolojik skor en düşük idi. 2. Ve 3.grupta patolojik skor açısından istatistiksel fark yoktu. 1. Ve 4. Grupta patolojik skor farkı istatistiksel olarak anlamlıydı. Serumda TAS/TOS/OSI çalışıldı. Yapılan çalışma sonrası TAS ve OSI değerlerinde gruplar arasında istatistiksel fark görülmedi. TOS değerinde ise Bonferroni düzeltmesi sonrası 1. Ve 3. Grup farkı istatistiksel olarak anlamlıydı. Dokuda çalışılan TAS/TOS/OSI değerlerinde ise gönderilen materyallerin bir kısmının çalışma için yeterli büyüklükte

ve içerikte olmaması sebebiyle BCA protokolü ile havuzlama yapıldı. Havuzlama yapıldığı için istatistiksel çalışma yapılamadı. Çalışma sonrası en yüksek TAS değeri 4.grupta (0,78), en düşük TAS değeri 1. Grupta (0,01) ölçüldü. TOS değeri en yüksek 2. Grupta (9,08) en düşük 1.grupta (4,06) ölçüldü. OSI ise en yüksek 1.grupta (35,352) en düşük 4. Grupta (1,067) ölçüldü. Motor muayenede Modifiye Tarlov Skorlaması kullanıldı. Modifiye Tarlov Kriterleri; 0: Extremitede hareket yok, 1: Minimal extremitde hareketi mevcut, 2: Aktif hareket var ancak desteksiz oturamıyor, 3: Desteksiz oturabiliyor ancak zıplayamıyor, 4: Zıplama var ancak zayıf, 5: Tam motor fonksiyon olarak değerlendirildi. Ortalama skor 1.grupta en düşük (0), 4.grupta en yüksek (3,33) ölçüldü.

Sonuç: Çalışmamızda Bardoxolone Methyl ve Metilprednisolon'un tek başına uygulandığında nöroprotektif olarak benzer koruyucu olduğu, ikisi kombine uygulandığında anlamlı derecede nöroprotektif etkinliğinin arttığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bardoxolone Methyl, Metilprednisolon, İskemi, Oksidatif Stres

ABSTRACT

Objective: In this study, we aimed to compare the neuroprotective efficacy of the compound Bardoxolone Methyl with Methylprednisolone during the secondary phase of spinal cord injury, using functional, biochemical, and histopathological parameters.

Materials and Methods: A total of 28 rats were divided into 4 groups, each consisting of 7 rats. A spinal cord ischemia model was established using an aneurysm clip. Group 1 received only trauma. In Group 2, 30 mg/kg of Bardoxolone Methyl was administered intraperitoneally after ischemia. In Group 3, 30 mg/kg of Methylprednisolone was administered intraperitoneally after ischemia. Group 4 received both compounds at a dose of 30 mg/kg intraperitoneally after ischemia. Modified Tarlov scoring was used for functional motor examination. Total Antioxidant Capacity (TAC), Total Oxidant Status (TOS), and Oxidative Stress Index (OSI) were analyzed in serum and tissues, along with histopathological examination. A pathology score was created during histopathological evaluation, taking into account necrosis, edema, neuronal loss, hemorrhage, and congestion. Median values per group were calculated for the generated scores (0 = none, 1 = minimal, 2 = mild, 3 = moderate, 4 = severe).

Results: Among the histopathologically examined tissues, Group 1 had the highest pathological score, while Group 4 had the lowest. There was no statistically significant difference between Groups 2 and 3 in terms of pathological scores. However, the difference between Groups 1 and 4 was statistically significant. In serum analyses of TAS/TOS/OSI, no significant differences were observed between the groups in TAS and OSI values. However, after Bonferroni correction, the difference in TOS values between Groups 1 and 3 was statistically significant. In the tissue-based TAS/TOS/OSI analyses, due to insufficient size and content of some samples, pooling was performed

using the BCA protocol, which prevented statistical analysis. The highest tissue TAS value was observed in Group 4 (0.78), and the lowest in Group 1 (0.01). The highest tissue TOS value was in Group 2 (9.08), and the lowest in Group 1 (4.06). OSI was highest in Group 1 (35.352) and lowest in Group 4 (1.067). For motor evaluation, the Modified Tarlov Scoring System was used. The criteria were: 0 = no movement in limbs, 1 = minimal limb movement, 2 = active movement but cannot sit unaided, 3 = can sit without support but can not jump, 4 = jumping present but weak, 5 = full motor function. The average score was lowest in Group 1 (0) and highest in Group 4 (3.33).

Conclusion: Our study demonstrated that both Bardoxolone Methyl and Methylprednisolone, when administered alone, have similar neuroprotective effects. However, when administered together, a significantly enhanced neuroprotective efficacy was observed.

Keywords: Bardoxolone Methyl, Methylprednisolone, Ischemia, Oxidative Stress

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Spinal kord omurga kanalında yer alan ve beyin ile vücut arasındaki köprü görevini gören önemli bir merkezi sinir sistemi bileşenidir. Spinal kord güçlü kemik yapılardan olan omurga içerisinde boydan boya uzanır. [1]

Spinal kord travması ülkelerde ciddi bir sağlık sorunu olup, morbiditesi yüksektir. Kord hasarlanması sonrası çeşitli fonksiyon kayıpları oluşmaktadır. Bu da ülkelerde ciddi ekonomik ve sağlık problemleri oluşturur.[2] Olguların %70'inden fazlasında multiple travma görülmektedir ve bu durum çeşitli ek komplikasyonlara neden olmaktadır. Spinal kord hasarından sonra hastaların çoğu normal hayatına dönememektedir. Özellikle ciddi spinal kord hasarı olan hastaların hastanede kalış süresi uzadığından ve hastane enfeksiyon riskinin çoğu immobil olan bu hastalarda yüzdesel olarak arttığından dolayı ciddi komplikasyonlarla karşılaşmaktadır.[3]

Omurga torakal ve lomber bölgede bir geçiş bölgesi olan torakolomber bileşke (T10-L2) en sık travma bölgelerinden birisidir ve genellikle trafik kazası, spor yaralanmaları gibi yüksek enerjili travma sonucu oluşur.[4]

Spinal kord hasarı insidansı 10.4 ile 83 kişi/milyon/yıl olarak belirtilmektedir. Oran ülkeler arası farklıdır. Örneğin Amerika Birleşik Devletlerinde insidans yaklaşık 54 kişi/milyon/yıl olarak belirlenmiştir.[5]

Spinal kord hasarı Primer ve Sekonder faz olarak iki fazdan oluşmaktadır. Primer faz olay anında travmaya bağlı olarak oluşur. Travmaya bağlı olarak olay anında aksonal ve nöronal hücreler mekanik olarak hasar görür. Bu fazdan sonra sekonder faz başlar. Bu fazda vücudun travmaya verdiği fizyolojik yanıttır. Bu evrede inflamasyon, iskemi, serbest radikal oluşumu, hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) artışı gibi nedenlerde hücre ölümü gerçekleşir. Klinik pratikte hücre hasarını arttıran bu faza müdahale edilir.[6]

Çalışmamızda yeni sentetik triterpenoid olan Bardoxolone Methyl (BARD) isimli Nfr-2 aktivatörü antioksidan değerlendirdik. BARD'ın Nfr-2(Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) aktivatörü olduğu NF-kB(Nuclear Factor kappa B) ve mTOR(mammalian target of rapamycin) üzerinden antioksidan etki ettiği ve onun alt aktivatörü olan hemooksijenaz-1(HO-1) düzeyini arttırdığı çalışmalarca gösterilmiştir.[7]

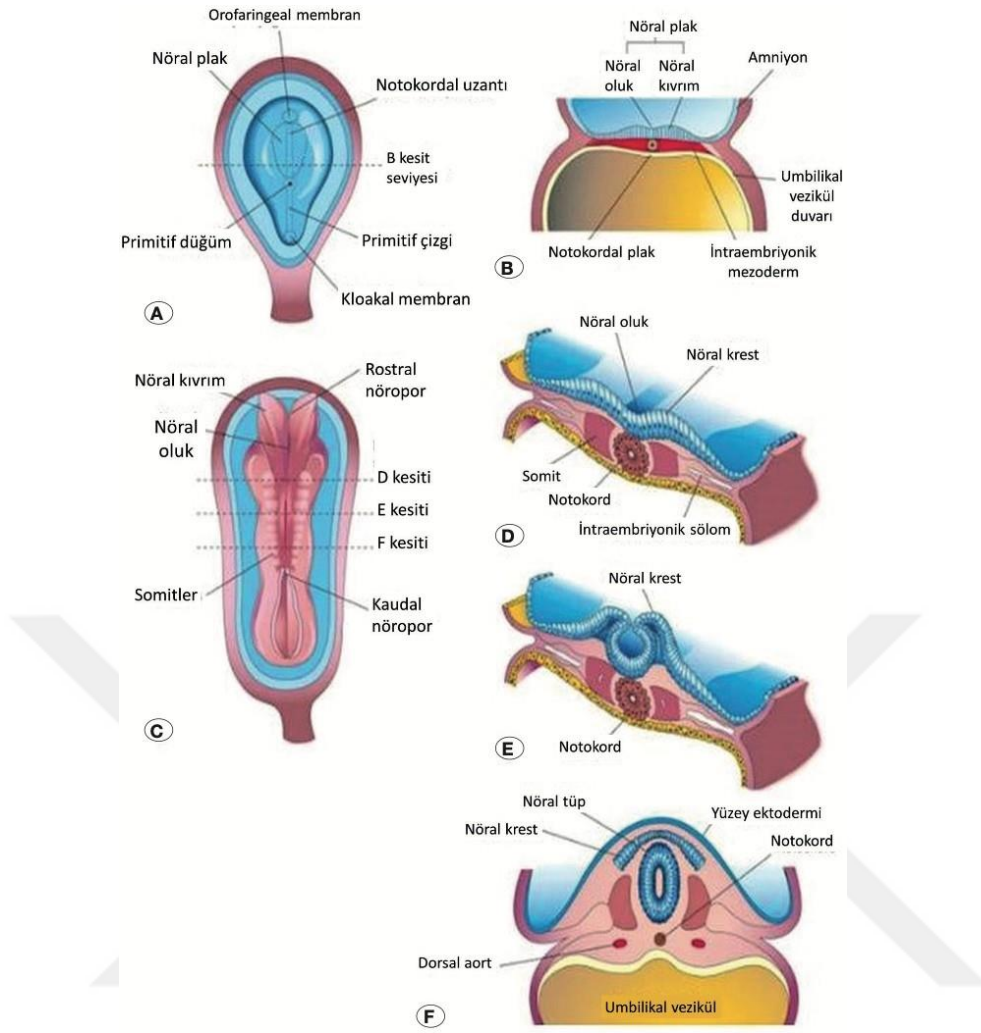
1990 yılının başlarında NASCIS II (National Acute Spinal Cord Injury Study) 'ın çalışma sonuçlarına göre özellikle akut yaralanma döneminde (ilk 8 saatte) yüksek doz(30 mg/kg bolus sonrasında 5.4 mg/kg/saat dozda 23 saat idame) Metilprednisolon kullanımının faydalı olabileceğini göstermiştir.[8] Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda yüksek doz metilprednisolon'un klinik olarak motor ve duyu iyileşmesine anlamlı bir fark katmadığı ve ayrıca pnömoni riskinin arttığını göstermiştir.[9]

Deneyisel çalışmamızda spinal kord yaralanması sonrası sekonder hasarı engellemek için klinik pratikte sıklıkla kullanılan Metilprednisolon ile BARD'ın hücrel iyileşmeye etkileri karşılaştırılmalı ve birlikte kullanılarak araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Spinal Kord Embriyolojisi

Omurga ve omurilik gelişiminin temeli olan nörolasyon embriyolojik dönemin 3. haftasında başlayıp 4. haftanın sonunda sona erer. Sinir sistemi ektodermin kalınlaşmasıyla gelişir ve daha sonra notokord ve mezodermin aktivasyonu ile nöral plak oluşur. Nöral plaktan da krista nöralis ve nöral tüp oluşur. [10](Şekil-1) Sonrasında nöral tüpten beyin ve omurilik, krista nöralisten ise spinal ganglionlar ve periferik sinir hücrelerinin nörolemma tabakası oluşur. Nöral krest ve nöral tüp yapısının ilk 4 somit çiftinin kranial 2/3' ü beyini, kalan 1/3 ü ise spinal kordu oluşturur. Nöral tüpün kranial ucu 24-26. günde kapanır (primer nörolasyon) ve kapanma kaudal uca doğru devam eder. Kaudal uç 26-28. günde kapanır (sekonder nörolasyon). Daha sonra kaudal uç hücreleri regresyona uğrayarak konus medullaris ve filum terminaleye dönüşür.[11]



Şekil 1. Sinir Sistemi Embriyolojik Gelişimi (10)

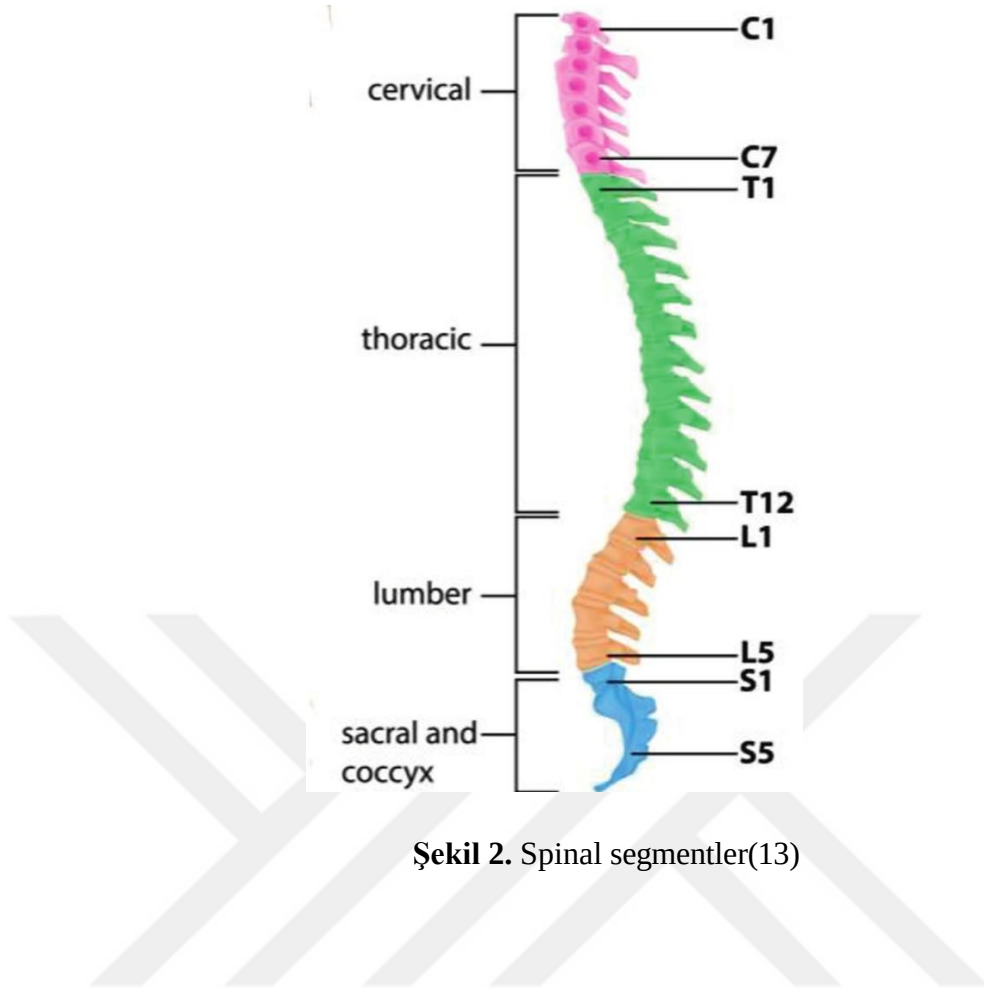
2.2 Spinal Kord Makroskopik Anatomisi

Spinal kord omurga içinde servikal C1 vertebradan başlar ve erişkinlerde L1, yenidoğan döneminde L3 seviyesine kadar uzanır. Spinal kord uzunluğu erkeklerde yaklaşık 45 kadınlarda yaklaşık 43 cm dir.[12] Omurilik conus medullaristen başlayan koksikse uzanan filum terminale ile sabitlenmiştir. Omurilikte toplam 31 segment mevcuttur. Bunların 8'i servikal, 12'si torakal, 5'i lomber, 5'i sakral, 1'i koksigeal segmenttir.[13](Şekil-2) C1 hariç tüm segmentlerde bir çift dorsal ve ventral kök bulunur ve bunlar nöral foramenlerde birleşerek spinal siniri oluşturur. [14] Spinal kord C4-T1 seviyesinde ve L2-S3 seviyelerinde genişler ve buralarda sırasıyla brakial plexus ve lomber plexus lifleri çıkar.[15]

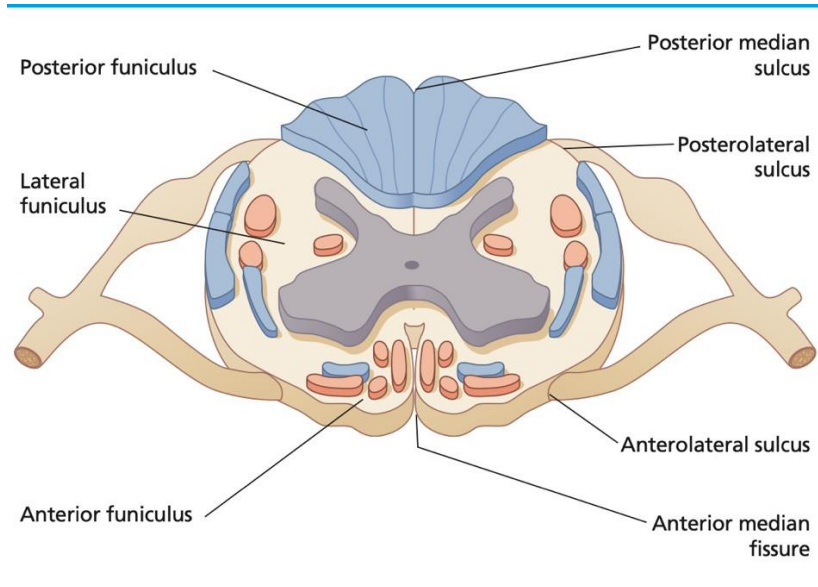
2.3 Spinal Kord Kesitsel Anatomi

Omuriliğin enine kesitine bakıldığında etrafı beyaz madde ile çevrili gri renkli H şeklinde kelebek benzeri bir görünüme sahiptir. Bu gri cevherde aksonlar ve dentritler bulunur. Beyaz cevherde ise myelinli ve myelinsiz aksonların inen ve çıkan yolları oluşturan uzantıları bulunur. Bu inen ve çıkan yollar (funiculus) anterior, lateral ve posteriorda bulunur ve birbirlerinden yanlarda anteriorolateral ve posterolateral sulcuslar ile önde anterior median sulcus ve arkada posterior median sulcus ile birbirinden ayrılır. (Şekil-3)[16]

Gri cevher, Rexed tarafından 1950'li yılların başında 10 adet laminaya ayrılmıştır.[17] Lamina I-IX, dorsalden ventrale sıralanmıştır. Lamina X ise merkezde bulunur. Lamina I (nucleus marginalis), dorsal köklerin giriş kısımlarında bulunur. Lamina II (substantia gelatinosa), periferden ısı ve ağrı duyusu taşır. Lamina III ve IV nucleus proprius'u oluşturur. Periferden titreşim, basınç ve bilinçli proprioseptif duyuları taşır. [18] Lamina V ve VI periferden mekanik ve viseral duyuları taşır. Lamina VII ve Lamina X sinaps yaparak duruş-mobilizasyonda görev alır. Lamina VIII reflekslerde görev alır. Lamina IX ektrafüzal ve intrafüzal kasların innerve edildiği alfa motor nöronlarla sinaps yapar. Lamina X ise santralde bulunur ve karşı taraf kordun bazı nöronlarıyla sinaps yapar. [19]



Şekil 2. Spinal segmentler(13)



Şekil 3. Spinal kord aksiyal kesit görünümü(16)

Omurilik 3 kat zar ile kaplıdır. En dışta Dura Mater, ortada Araknoid Mater, en içte Pia Mater bulunur. Dura mater ile araknoid mater arasında subdural boşluk mevcuttur. Omurilik ligamentum denticulatum ile subdural boşluktan dura matere bağlanır. Pia mater ve araknoid mater arasında BOS (beyin omurilik sıvısı) bulunur.[20]

2.4 Spinal Kord Vasküler Yapısı

Spinal kordun anteriorunda 1 adet anterior spinal arter, posteriorunda 2 adet posterior servikal arter ve radiküler arterler ile olur. [21](Şekil-4)

Anterior spinal arter medulla oblongatadan filum terminaleye dek uzanarak buranın vasküler beslenmesini sağlar. [21]

Posterior spinal arterler spinal kord posteriorunda bulunan sulcus posterolateralis içinde boydan boya uzanır ve radiküler arterler ile anastomoz yaparlar.[21] Radikülomedullar anastomozlardan birisi olan ve T8-L2 seviyesinde %75-80 sol interkostal lomber arterden köken alan Adamkiewicz arteri bulunur.(Şekil-4) [21]

Spinal kord venleri arterleri gibi yerleşim göstermekte olup, seviyelerine göre internal juguler ven,vena cava superior veya vena cava inferiora boşalırlar.(Şekil-5)[22]

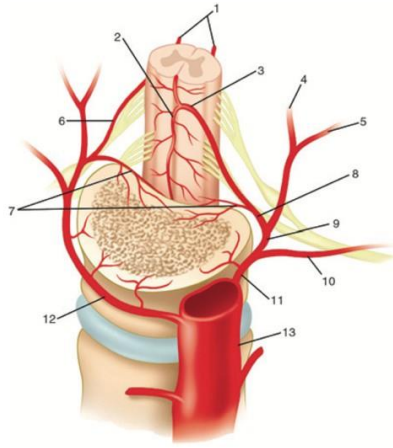
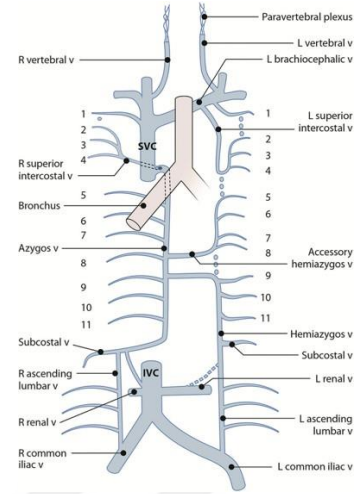


Figure 2 (1) Posterior spinal arteries; (2) anterior spinal artery; (3) great anterior radiculomedullary artery or artery of Adamkiewicz; (4) medial musculocutaneous branch; (5) lateral musculocutaneous branch; (6) posterior radiculomedullary artery; (7) retrocorporeal arteries; (8) spinal branch; (9) posterior (dorsal) branch; (10) anterior (ventral) branch; (11) left segmental artery (posterior intercostal artery); (12) right segmental artery (posterior intercostal artery); (13) aorta.

Şekil 4. Spinal arterler (21)



Şekil 5. Spinal venler (22)

2.5 Spinal Kord Hasarı Patofizyolojisi

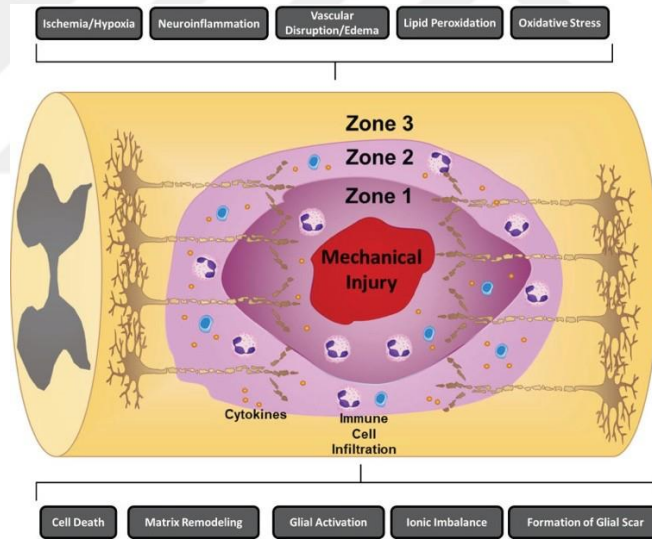
Spinal kord hasarı patofizyolojisi günümüzde halen net olarak bilinmese de primer ve sekonder hasar fazı olarak iki fazda incelenmektedir.[23]

2.5.1 Primer Hasar Fazı

Primer hasar fazı hasarın olduğu anda gelişen akut mekanik hasardır. Nöronların direk mekanik hasar gördüğü fazdır.[24] Künt travma,delici kesici yaralanma, yüksek enerjili travma gibi çeşitli travma çeşitleriyle oluşabilir ve engellenemez hasar oluşur. [25]

2.5.2 Sekonder Hasar Fazı

Sekonder hasar fazı primer hasardan farklı olarak travmayı takiben oluşur. Sekonder yaralanma mekanizmasında; nöroinflamasyon, iskemi, nörojenik şok, serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu, kan-merkezi sinir sistemi bariyerinin bozulması, ödem, proteaz salınımı ve eksitotoksisite yer alır. [26] Hasardan sonra dokuda 3 zone oluşur. Zone 1 travma sonrası oluşan nekroz ve inflamasyonu içeren dokulardır. Zone 2 de ise kısmi yaralanma vardır ve burda akson şişmesi, Wallerian dejenerasyon ve bir miktar inflamasyon görülür. Zone 3 ise sağlam doku olarak kabul edilir.(Şekil 6) [27]



Şekil 6. Posttravmatik Zone' lar(27)

Nörojenik şok: Spinal travma sonrasında sekonder fazda görülen bu durumda sempatik aktivite kaybı nedeniyle oluşan bradikardi, hipotansiyon ve periferik vasküler direncin azalmasıyla oluşan şok durumudur. Hipotansiyona bağlı spinal kord beslenmesi mikrovasküler düzeyde bozularak hasarı daha da belirginleştiren iskemiye yol açar.[28]

Vasküler Hasarlanma: Spinal travma sonrası oluşan primer vasküler endotel travma sonrası endotelial trombosit birikimi görülebilmekte ve bu da spinal dolaşımda emboliye sebep olabilmektedir. Spinal dolaşımda oluşabilecek emboli sonrası ise spinal kord iskemik hasarında kaudale veya kraniale doğru iskemik lezyon artışı görülebilmektedir.[29]

Serbest Radikaller: Spinal travma sonrası oluşan iskemi ve hücre içi otoregülasyonun bozulması sonucunda hiperemik faza geçilir. Bu fazda reperfüzyon oluşturulur. Reperfüzyonda oluşan serbest radikal artışı antioksidan kapasiteyi aşar ise hücre içinde mitokondriyal zincir reaksiyonlarının inaktivasyonu, gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz enziminin inaktivasyonu, lipid peroksidasyonu, Na-K ATPaz kanalı inaktivasyonuna bağlı olarak hücre ölümü artışı görülür.[30]

Eksotoksitite : Sinir sisteminde majör eksitator olarak görev alan Glutamat travma sonrası birkaç dakika içinde toksik düzeye ulaşır. Glutamat reseptör aktivasyonu ile hücre için Na^+ miktarı artışı görülür.[31]Yapılan çalışmalarda Glutamat'ın bağlandığı N-methyl-D-aspartate (NMDA) ve amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate-kainate (AMPA) reseptörlerinin aktivasyonunun iskemik hasarda önemli rol aldığını göstermektedir.[32] Oligodentrositler, 10 ila 40 aksonun miyelin kılıfını üretir. Oligodentrositler bu AMPA ve bazı kainat reseptörlerinin sinyallerine çok hassastır ve bir oligodentrositin ölümü birkaç aksonun demiyelizasyonuna neden olabilir.[33] Normalde aksiyon potansiyeli oluşurken hücre içine sodyum geçici olarak voltaj bağımlı kapılarla alınır. Ancak travma sonrası bu kapı bozulduğundan dolayı hücre içine ciddi miktarda sodyum birikir. Na^+ - Ca^{++} kanalı sodyum-kalsiyum değiş tokuşu yapar. Bununla birlikte hücre içinde kalsiyum artışı görülür. Artışa sekonder kalpainler, fosfolipaz A2 ve lipoksijenaz gibi lizozomal enzimlerde artış görülür. Bunun sonucunda hücre ölümü hızlanır. [34] Hücre içi Ca^{++} artışı ile hücre içinde bulunan inorganik fosfatlar Ca^{++} ile bağlanır. Hücre için kullanılabilir fosfor azaldığından dolayı birkaç dakika içerisinde kreatin fosfokinaz, adenosin trifosfat (ATP), adenosin difosfat(ADP)

ve adenosin monofosfat(AMP) kaynakları hızla tükenerek hücre içi enerji kaybına yol açar.[35] Kalpainlerin aktivasyonu ile myelin ile ilişkili inhibitörler (MAI) ve kondroitin sülfat proteoglikanlar (CSPG) ve pronötrofinler gibi inhibitör faktörlerde artış olur. Hasarlı bölgede biriken bu maddeler hasarlı sinir dokusu tamirini engeller.[36]

Nöroinflamasyon: Spinal kord hasarı sonrası immün yanıt olarak makrofajlar, lökositler, TNF-alfa(Tümör nekrozis faktör-alfa) ve T hücreleri gibi bağışıklık sistemi hücreleri aktivitelerinde artış görülür. İnflamatuvar sitokinlerin salınmasıyla kan ürünü olan monosit-makrofajlar vepu glial hücrelerde bulunan mikroglialar hasarlı dokuyu fagosit eder. Bir diğer yandan TNF-alfa hasarlı bölgede sitokinler (interferon,interlökin gibi) üretir.[37] Bu oluşan sitokinler COX-2(siklooksijenaz-2) yi eksprese eder. COX-2 hücrede bulunan araşidonik asidin proinflamatuvar prostanoidlere (prostoglandin,prostasiklin, tromboxanlar gibi) dönüşümünü tetikler. Prostasiklin; vazodilatör etkiye sahiptir ve vasküler geçirgenliği artr. Bunun sonucunda hücre içi ödem oluşur. Diğer yandan oluşan Tromboxan A2 trombosit agregasyonunu tetikler ve vazospazma neden olur. Bunun sonucunda hasarlı dokuda iskemi artışı görülür. [38] Yapılan bazı deneysel spinal kord hasar modellerinde, hücrede COX-1(siklooksijenaz-1) artışı görülmüştür. Bu da trombosit agregasyonuna ve vazokonstriksiyona neden olmaktadır.[39]

Nekrozis Ve Apoptozis: Nekrozis ve apoptozis hücre ölümünü açıklayan terimler olmasına rağmen oluşum mekanizmaları farklıdır. Nekrozis; hücre şişmesi, hücre duvarı yaranması, ATP üretim kaybı gibi nedenler sonucu hücre içeriğinin dışarı çıkması ile karakterize direkt hücre ölümüdür. Apoptozis ise ATP bağımlı kaspazlar ile gerçekleştirilen programlı hücre ölümüdür.[40] Spinal travmada her iki tür hücre ölümünde gerçekleştiği bilinmektedir. Her ikisi de hücre şişmesi, ekzotoksitite, iskemi gibi olaylara sekonder olarak oluşabilir. Ancak travma şiddeti artkça nekrozis

oluşma oranı artar. Nekrozis oluşan hasarlı dokunun kurtarılması zor olabilir ancak daha az travmaya maruz kalan ve apoptozis oluşumu başlayan hücreler kurtarılabilir.[41] Spinal kord hasarı sonrası hasarlı bölgede biriken TNF-alfa'nın yapılan bazı çalışmalarda özellikle oligodentrosit apoptozunu bazı reseptör aracılı sinyal yollarıyla aktive ettiği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda interlekin-10 (IL-10)'un TNF-alfa ekspresyonunu azalttığı ve dolayısıyla apoptozu azalttığı gösterilmiştir. [42] Son yapılan çalışmalara göre TNF-alfa'nın spinal kord hasarında ikili rol oynadığını göstermiştir. Çalışmalarda hasar sonrası kronik dönemde TNF-alfa'nın sinir büyüme faktörü (NGF), transformasyon büyüme faktörü-beta (TGF- β), insülin, IL-10 gibi bazı anti-inflamatuar sitokinlerin sentezini artırdığı gösterilmiştir. Akut fazda TNF-alfa inhibisyonunun hücre apoptozunu azalttığı, kronik dönemde ise TNF-alfa'nın nöroprotektif rol aldığı düşünülmektedir. [43]

2.5.3. Spinal Kord Hasarı Nörolojik Sınıflaması

Spinal kord hasarında yıllardır araştırılan tedavi metodları hastanın motor ve duyu fonksiyonlarını kazanabilmesi üzerine geliştirilmiştir. Spinal kord hasarında yaygın olarak kabul edilen skala American Spinal Injury Association (ASIA)'dır.[44] ASIA skorlamasında duyu değerlendirilmesi vücudun iki tarafında bulunan 28 dermatom hafif dokunma ve iğne batırma ile 0-2 uyarılarak, motor değerlendirilme ise anahtar kaslar baz alınarak vücudun iki tarafında bulunan 10 myotom değerlendirilerek yapılır ve 0-5 arası puan verilir. Herhangi bir nedenle değerlendirilemeyen muayeneye Yine otonom refleksler ve bazı spinal kord sendromlarının varlığında değerlendirilerek puan verilir.[45](Şekil-7)(Şekil-8) 2013 yılında yapılan revizyonda ise daha ayrıntılı nörolojik değerlendirme sunulmuştur. Eskisinden farklı olarak anahtar olmayan kas grupları da skorlamaya dahil edilmiştir.[46](Şekil-9) Bütün bunlar değerlendirilerek ASIA skalasına göre ASIA-A'dan ASIA-D 'ye kadar bir sınıflama yapılır. Daha önce nörodefisiti olan ancak ISNCSCI (International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord

Injury) ‘ ye göre normal muayene bulguları olan hastalar ASIA-E olarak sınıflandırılmıştır.[47] (Şekil-10)

STANDARD NEUROLOGICAL CLASSIFICATION OF SPINAL CORD INJURY

MOTOR
KEY MUSCLES

C2
C3
C4
C5
C6
C7
C8
T1
T2
T3
T4
T5
T6
T7
T8
T9
T10
T11
T12
L1
L2
L3
L4
L5
S1
S2
S3
S4-5

Elbow flexors
Wrist extensors
Elbow extensors
Finger flexors (distal phalanx of middle finger)
Finger abductors (little finger)

0 = total paralysis
1 = palpable or visible contraction
2 = active movement, gravity eliminated
3 = active movement, against gravity
4 = active movement, against some resistance
5 = active movement, against full resistance
NT = not testable

Hip flexors
Knee extensors
Ankle dorsiflexors
Long toe extensors
Ankle plantar flexors

Voluntary anal contraction (Yes/No)

TOTALS (MAXIMUM) (50) (50) (100) **MOTOR SCORE**

SENSORY
KEY SENSORY POINTS

C2
C3
C4
C5
C6
C7
C8
T1
T2
T3
T4
T5
T6
T7
T8
T9
T10
T11
T12
L1
L2
L3
L4
L5
S1
S2
S3
S4-5

0 = absent
1 = impaired
2 = normal
NT = not testable

Any anal sensation (Yes/No)

TOTALS (MAXIMUM) (56) (56) (56) (56) **PIN PRICK SCORE** (max: 112)
LIGHT TOUCH SCORE (max: 112)

NEUROLOGICAL LEVELS
The most caudal segment with normal function

COMPLETE OR INCOMPLETE?
Incomplete = Any sensory or motor function is S4-S5

ASIA IMPAIRMENT SCALE

ZONE OF PARTIAL PRESERVATION
Preserved segments

SENSORY MOTOR

This form may be copied freely but should not be altered without permission from the American Spinal Injury Association. Version 40 GHQ 1996

Şekil 7. ASIA skorlaması (45)

Functional Independence Measure (FIM)

7 Complete Independence (Timely, Safely)	No Helper
6 Modified Independence (Device)	
Modified Dependence	
5 Supervision	
4 Minimal Assist (Subject = 75%+)	
3 Moderate Assist (Subject = 50%+)	Helper
Complete Dependence	
2 Maximal Assist (Subject = 25%+)	
1 Total Assist (Subject = 0%+)	

	ADMIT	DISCH
Self Care		
A. Eating		
B. Grooming		
C. Bathing		
D. Dressing-Upper Body		
E. Dressing-Lower Body		
F. Toileting		
Sphincter Control		
G. Bladder Management		
H. Bowel Management		
Mobility		
Transfer:		
I. Bed, Chair, Wheelchair		
J. Toilet		
K. Tub, Shower		
Locomotion		
L. Walk/wheelchair		
M. Stairs		
Communication		
N. Comprehension		
O. Expression		
Social Cognition		
P. Social Interaction		
Q. Problem Solving		
R. Memory		
Total FIM		

NOTE: Leave no blanks; enter 1 if patient not testable due to risk.

ASIA IMPAIRMENT SCALE

☐ A = **Complete**: No motor or sensory function is preserved in the sacral segments S4-S5.

☐ B = **Incomplete**: Sensory but not motor function is preserved below the neurological level and includes the sacral segments S4-S5.

☐ C = **Incomplete**: Motor function is preserved below the neurological level, and more than half of key muscles below the neurological level have a muscle grade less than 3.

☐ D = **Incomplete**: Motor function is preserved below the neurological level, and at least half of key muscles below the neurological level have a muscle grade of 3 or more.

☐ E = **Normal**: motor and sensory function is normal

CLINICAL SYNDROMES

☐ Central Cord

☐ Brown-Sequard

☐ Anterior Cord

☐ Conus Medullaris

☐ Cauda Equina

Şekil 8. ASIA skorlaması(45)

Table 1. Muscle functions out of key muscle (optional) and related root levels

Motion	Root level
Shoulder: Flexion, extension, abduction, adduction, internal and external rotation	
Elbow: Supination	C5
Elbow: Pronation	
Wrist: Flexion	C6
Finger: Flexion in the proximal joint, extension	
Thumb: Thumb extension and abduction	C7
Finger: Flexion in the MCP joint	
Thumb: Opposition, adduction and abduction vertical to the palm	C8
Finger: Abduction in the second finger	T1
Hip: Adduction	L2
Hip: External rotation	L3
Hip: Extension, abduction, internal rotation	
Knee: Flexion	
Ankle: Inversion and eversion	
Finger: MP and IP extension	L4
Toe and finger: DIP and PIP flexion and abduction	L5
Toe: Adduction	S1

Şekil 9. Anahtar olmayan kas grupları (46)

Grade	Description
A	Complete; no sensory or motor function preserved in the sacral segments S4–S5
B	Incomplete; sensory but not motor function preserved below the neurological level and extending through the sacral segment S4–S5
C	C Incomplete; motor function preserved below the neurological level; most (more than half) key muscles have a grade <3. Sensory function is present below the neurological level and includes sacral segments S4–S5
D	D Incomplete; motor function preserved below the neurological level; most (at least half) key muscles have a grade 3 or more. Sensory function is present below the neurological level and includes sacral segments S4–S5
E	Normal motor and sensory function

Şekil 10. ASIA sınıflaması(47)

2.5.4 Tedavi Protokolleri

Spinal kord hasarında olay anında oluşan ve engellenemez mekanik hasar süreci olan primer fazın tedavisi bulunmamakla birlikte eğer spinal kord kompresyonu var ise mekanik hasar veren bu tabloyu cerrahi olarak ortadan kaldırmak gereklidir. [48] Spinal kord hasarı sonrası kök hücre çeşitleri, bazı biyolojik aktif maddeler, nörotrofik faktörler, bazı ilaçlar denenmiş ve çalışmaları devam etmektedir.(Tablo-1)[49] Bir çok ilaç faz 2 çalışmada başarısız olup, başarılı olan Metilprednisolon süksinat halen günümüzde yüksek yan etki düşük fayda sebebiyle tartışılmaktadır.[50] Yine yapılan çalışmalarda Monosialotetrahexosylganglioside (GM-1) hücre zarında bulunan bir glikosfingolipittir. GM-1 spinal kord hasarında deneysel hayvan modellerinde ve faz 1 çalışmalarda motor iyileşmede pozitif etkili olduğu gösterilsede daha sonra yapılan faz 3 çalışmada istatistiksel olarak anlamlı iyileşme göstermediği ortaya konmuştur.[51]

Tablo 1. Spinal kord hasarı için kullanılan bazı ilaçların klinik çalışmaları(49)

Drugs	Patients condition	Frequency of administration	Study types	Subjects	Phase	ClinicalTrials.gov identifier or refs
Glyburide	Acute SCI	3.125 mg po on day 1, 2.5 mg for following days to 2 weeks	Interventional	3	Phase 1/2	NCT02524379
Buspione and Levodopa-Carbidopa	SCI with EES	40 mg Buspione, 400 mg/100 mg Levodopa-Carbidopa po, single-dose administration	Interventional	8	Phase 1	NCT04052776
Vitamin D3	Thoracic-level chronic SCI	6000 IU per day or 50,000 IU per week for 8 weeks	Interventional	60	Not applicable	NCT04400747
Lyrica	Traumatic SCI	150 mg p.o. Bid for 49 weeks	Interventional	5	Phase 3	NCT00879021
Modified-release morphine	Traumatic SCI	up to 120 mg p.o. for 7 weeks	Interventional	17	Phase 2	NCT00488969
GW-1000-02	Non-acute SCI	100 µl (THC 2.7 mg and CBD 2.5 mg)/time 8 times in 3 h, and 48 times in 24 h, 7-21 days.	Interventional	116	Phase 3	NCT01606202
Amitriptyline	6 months post SCI	N/A daily dose for 6 weeks	Interventional	100	Phase 4	NCT00006428
KAI-1678	1 year post SCI	N/A dose KAI-1678 i.v.	Interventional	5	Phase 2	NCT01135108
Neostigmine and Glycopyrrolate	SCI	Visit 1: 0.03 mg/kg NEO and 0.006 mg/kg GLY i.v. Visit 2: 0.05 mg/kg NEO and 0.01 mg/kg GLY i.v. Visit 3: 0.07 mg/kg NEO and 0.14 mg/kg GLY i.v. 2-14 days.	Interventional	28	Phase 1	NCT02370862
BOTOX-A	T10 or above Thoracic-Level SCI 8 weeks post injury	100 units BTX-A injections on day 0 and day 90	Interventional	1	Phase 2	NCT00711087
Fampridine-SR	18 months post traumatic SCI	25 mg p.o. bid, 12 weeks	Interventional	213	Phase 3	NCT00041717
Alendronate	Chronic SCI	70 mg p.o. weekly for 12 months	Interventional	17	Phase 2	NCT02195895
Teriparatide	Chronic SCI	20 ug daily Sub-Q over 12 months	Interventional	25	Phase 2	NCT02025179

2.5.4.1 Metilprednisolon

Metilprednisolon anti-inflamatuar özelliği geliştirilmiş, mineralokortikoid (sodyum tutucu, potasyum atıcı) özelliği azaltılmış bir sentetik glukokortikoiddir. [52] Hücre duvarı lipit peroksidasyonunu ve nöral ödemi azaltan, hasarlı nöral dokuya kan akışını arttıran metilprednisolon yıllarca hastalarda ve deneysel modellerde denenmiş olmasına rağmen nöroprotektif etkinliği halen tartışmalıdır.[53] 1984 yılında yayımlanan Ulusal Omurilik Yaralanması Çalışması I (NASCIS I) 1gr bolus yükleme sonrası 10 gün boyunca 1gr verilmesi ile 100mg bolus ve sonrasında günlük 100mg verilmesi arasında nöroprotektif bir fark bulamamış olup, enfeksiyon oranlarının ikisinde de yüksek olduğunu göstermiştir.[54] 1990 yılında yapılan NASCIS II çalışmasında yüksek doz metilprednisolon uygulanan hastalarda sadece ilk 8 saatte uygulanan alt grubun motor fonksiyonlarında pozitif iyileşme görülmüştür. [55] 1997 yılında yapılan NASCIS III çalışmasında ise metilprednisolon uygulama süresini uzun tutarak daha fazla nöroprotektif yanıt elde edilip edilmeyeceğine bakıldı. Hastalara yüksek doz (30 mg/kg IV bolus, 5.4 mg/kg/h idame) Metilprednisolon verildi. Hastaların bir kısmına travma sonrası 3 saatten önce bazılarına ise 3 saat sonra ilaç uygulandı. 48 saat ve 24 saat uygulanan hastalarda, 48 saat uygulamanın 24 saat uygulamaya göre motor iyileşmede 3 puan daha fazla olduğu görüldü. Posttravma 3. Saatten sonra başlanan uygulamada ise 48 saatlik uygulama motor iyileşmede 6 puan daha fazla aldı. Ancak uzun süreli uygulamalarda enfeksiyon oranlarında da anlamlı artış görüldü.(Tablo-2)[56] Son yapılan çalışmalarda ise yüksek doz metilprednisolon kullanımının travma sonrası ilk 8 saatte nörolojik motor iyileşme gösterebildiği ancak sistemik yan etkileri ve enfeksiyon oranlarını arttırdığı için halen standart tedavi olarak kabul edilmemiş olup tartışılmaktadır.[57] Yine 2015 yılında yapılan Evaniew N. ve ark.larının yaptığı meta analizde uzun vadeli metilprednisolon kullanımının nörolojik iyileşmeye anlamlı katkısının olmadığını ve artan gastrointestinal kanama ile ilişkili olduğunu göstermiştir.[58]

Tablo 2. NASCIS araştırma sonuçları(56)

TABLE. Summary of Results of NASCIS I, II, and III Clinical Trials Assessing the Use of Methylprednisolone Sodium Succinate in Spinal Cord Injury^a		
Trial	Methods/Population	Results
NASCIS I, Bracken et al, 1984 <i>JAMA</i>	330 patients randomly assigned to 2 groups (low-dose and high-dose steroid groups)	No statistically significant difference in motor function, light touch, and pinprick scores between 2 groups at 6 wk and 6 mo postinjury
	1. 100 mg loading dose of intravenous methylprednisolone followed by 25 mg every 6 h for 10 days	Wound infection 3.6 times more frequent in high-dose steroid group ($P = .01$)
	2. 1000 mg loading dose of intravenous methylprednisolone followed by 250 mg every 6 h for 10 days	No statistically significant differences in mortality
NASCIS II, Bracken et al, 1990 <i>NEJM</i>	487 patients randomly assigned to 3 groups	Patients treated with methylprednisolone within 8 h of injury demonstrated significant improvements in motor function at 6 wk ($P = .048$) and 6 mo ($P = .033$) postinjury compared with placebo
	1. Active methylprednisolone and naloxone placebo	No significant differences in wound infection, gastrointestinal bleeding, or mortality between groups
	2. Methylprednisolone placebo and active naloxone 3. Methylprednisolone placebo and naloxone placebo	
NASCIS III, Bracken et al, 1997 <i>JAMA</i>	Methylprednisolone given in a bolus dose of 30 mg/kg with a maintenance dose of 5.4 mg/kg/h	
	Naloxone given in a bolus dose of 5.4 mg/kg and a maintenance dose of 4.0 mg/kg/h	
	Both drugs administered in a bolus over 15 min with a 45-min pause, then followed by a 23-h maintenance infusion	
	499 patients were randomly assigned to 3 groups. Each was given a bolus of intravenous methylprednisolone (20-40 mg/kg) before randomization as follows:	Improved motor recovery was greater for the 48-h treatment group of MPSS than for the 24-h treatment group at 6 wk (12.5 vs 7.6; $P = .04$) and 6 mo (17.6 vs 11.2; $P = .01$), but only for the groups receiving MPSS between 3 and 8 h postinjury
	1. Methylprednisolone infused intravenously continuously over 24 h at 5.4 mg/kg/h	Similar trends were observed for pinprick, light touch, and deep pain, although the differences were smaller and insignificant
	2. Methylprednisolone infused intravenously continuously over 48 hours at 5.4 mg/kg/h	No differences in survival between groups but greater rates of severe sepsis and pneumonia in 48-h methylprednisolone protocol
	3. Tirilazad mesylate at a dose of 2.5 mg/kg given via intravenous bolus infusion over 15-20 min every 6 h for 48 h	

^aNASCIS, National Acute Spinal Cord Injury Studies; MPSS, methylprednisolone sodium succinate.

2.5.4.2 Bardoxolone Methyl

Bardoxolone Methyl(BARD) veya diğer adıyla RTA 402 bir sentetik Triterpenoiddir. Triterpenoidler krizantem çiçeği gibi bazı bitnikilerden squalenin halkalanmasıyla sentezlenirler. Doğal olarak bulunan triterpenoidler olenoik asit ve ursolik asit zayıf anti-kansorejen ve zayıf anti-inflamatuar etkinliğe sahiptir. Sentetik olarak üretilen 2-siyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oik asit (CDDO) ve türevleri indüksiyon nitrik oksit sentaz ve indüksiyon siklooksijenaz 2 gibi inflamatuvar bileşikler güçlü şekilde inhibe eder. Bu yüzden anti-inflamatuar ve anti-kansorejen olarak hastalarda denenmiştir. BARD ise CDDO' dan çok daha güçlü bileşiktir.[59]

BARD, Nfr2/Keap1 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2/ Kelch-like ECH-associated protein 1) sistemi aracılığıyla NF-kB (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) 'yi inhibe ederek antioksidan ve sitoprotektif genlerin transkripsiyonunu düzenler.[60] Yapılan bazı çalışmalarda kronik böbrek hastalarında kullanılan BARD'ın bu sistem üzerinden yaptığı etki ile idrar çıkışı ve GFR (Glomerüler Filtrasyon Hızı) değerinde anlamlı pozitif değişiklik olduğu saptanmıştır.[61] Başka bir çalışmada ise ratlarda deneysel serebral iskemi-reperfüzyonda BARD kullanılmış ve serebral hasarın azaldığı gösterilmiştir.[62] Yapılan bir deneysel hayvan modeli çalışmasında diyabetik nöropatiye karşı denenilen BARD'ın Nfr-2 yolunu uyararak antioksidan kapasiteyi arttırdığı, diyabetik nöropatili sıçanların termal ve mekanik tepkilerinin iyileştirdiğini göstermiştir. [63] Yine yapılan başka bir deneysel multiple skleroz rat modelinde Nfr-2 aktivasyonunun ile myelin,akson ve nöronlarda antioksidan yanıtları arttırdığı gösterilmiştir.[64] Biz bu çalışmamızda BARD'ın spinal kord hasarı sonrası akut dönemde sekonder fazda oluşan inflamasyonu azaltıcı ve nöroprotektif etkisinin Metilprednisolon ile kıyaslayıp yeni bir tedavi modeli ortaya koymayı planlıyoruz.

3.MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde (DEHAM) yapıldı. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (HADYEK) onay alındı.(onay kodu:2024/57) 2-3 Aylık dişi Sprague Dawley cins ratlar (252gr-320gr) DEHAM dan elde edildi. Bakımları da aynı yerde yapıldı. Hayvanlara herhangi bir su-yem kısıtı uygulanmadı. Çalışma Çevre Ve Şehircilik Bakanlığının 13/12/2011 Tarihli ve 28141 sayılı "Hayvan deneyleri etik kurullarının çalışma, usul ve esaslarına dair yönetmelik" e uygun olarak Vet. Hek. Dr. Hakan FİDANBOY gözetiminde yürütüldü.

3.1 Deney Grupları

Her biri 7 adet rattan oluşan 4 adet grup oluşturuldu.

Grup 1(Kontrol Grubu): Bu gruptaki ratlara (n:7) T7-T8-T9 laminektomi uygulandıktan sonra anevrizma klibi modeli kullanılarak spinal kord hasarı oluşturuldu. Cerrahi sonrası 23. Saatte nörolojik muayene yapıldı. Sakrifikasyonu takiben 24. Saatte spinal kord ve kan örnekleri alındı.

Grup 2 (Metilprednisolon): Bu gruptaki ratlara (n:7) T7-T8-T9 laminektomi uygulandıktan sonra anevrizma klibi modeli kullanılarak spinal kord hasarı oluşturuldu. Sonrasında 30 mg/kg dozda Metilprednisolon intraperitoneal olarak uygulandı. Etkilerini değerlendirmek için cerrahi sonrası 23. Saatte nörolojik muayene yapıldı. Sakrifikasyonu takiben 24. saatte spinal kord ve kan örnekleri alındı.

Grup 3 (Bardoxolone Methyl): Bu gruptaki ratlara (n:7) T7-T8-T9 laminektomi uygulandıktan sonra anevrizma klibi modeli kullanılarak spinal kord hasarı oluşturuldu. Sonrasında 30 mg/kg dozda Bardoxolone Methyl intraperitoneal olarak uygulandı. Cerrahi sonrası 23. Saatte nörolojik muayene yapıldı. Sakrifikasyonu takiben 24.saatte spinal kord ve kan örnekleri alındı.

Grup 4 (Bardoxolone Methyl+Metilprednisolon): Bu gruptaki ratlara (n:7) T7-T8-T9 laminektomi uygulandıktan sonra anevrizma klibi modeli kullanılarak spinal kord hasarı oluşturuldu. Sonrasında 30 mg/kg dozda Metilprednisolon ve 30 mg/kg dozda Bardoxolone Methyl intraperitoneal olarak uygulandı. Cerrahi sonrası 23. Saatte nörolojik muayene yapıldı. Sakrifikasyonu takiben 24.saatte spinal kord ve kan örnekleri alındı.

3.2 Anestezi

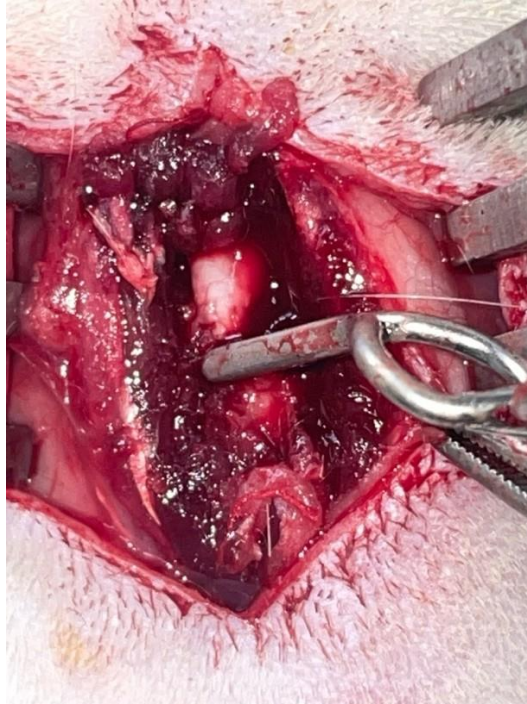
Tüm deneklere cerrahi öncesi ve sakrifikasyon öncesi olmak üzere 2 kez derin anestezi uygulandı. Anestezi için intramusküler yolla 5 mg/kg Xylazin (Rompun, Bayer, İstanbul/Türkiye) ve 50 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer, İstanbul/Türkiye) karışımı kullanılarak genel anestezi sağlandı. Gerektiğinde ek doz ketamin hidroklorür (25 mg/kg) ve Xylazin (5 mg/kg) tekrarlandı. Anestezi süresince denekler solunum desteğine ihtiyaç duymadan spontan solunum ile izlendiler.

3.3 Cerrahi Teknik

Ratlar prone pozisyonda tespit tahtasına yerleştirildi. Torakal bölge geniş şekilde traşlandı. (Resim-1) Bölge Povidion iyodin (Batticon st solüsyon, Adeka, Samsun / Türkiye) ile sterilize edildi. Orta hatta yaklaşık 4 cm'lik insizyon belirlendikten sonra cilt ciltaltı ve fasya geçildi. Paravertebral adeleler sıyrıldı. Laminalar ortaya konulduktan sonra T7-8-9 laminektomi yapılarak dura ortaya konuldu. Spinal kord Kapanma basıncı 63gr olan Yaşargil anevrizma klembi kullanılarak (Aesculap, FE721K) spinal kord 60 saniye boyunca kliplendi.(Resim-2)



Resim-1 Torakal bölge geniş traşlama sonrası



Resim-2 Spinal kord klempleme sonrası

Travma oluşumu sonrasında hemostaz sağlanarak cilt ciltaltı 3/0 vicryl ile primer suture edilerek cerrahi işlem sonlandırıldı. Ratlar normal oda ısısında uyandırıldı. 4. Gruptan 1 rat postop 20.saatte exitus kabul edildi.

3.4 İlaç Uygulaması

Cerrahi işlem sonlandırıldıktan sonra 1. gruba herhangi bir ilaç verilmedi. 2.gruba 30 mg/kg Bardoxolone Methyl intraperitoneal olarak uygulandı. 3.gruba 30 mg/kg prednizolon intraperitoneal olarak uygulandı. 4.gruba ise 30 mg/kg Bardoxolone methyl ve 30 mg/kg prednizolon intraperitoneal olarak uygulandı.

3.5 Sakrifikasyon

Postop 24.saatte denekler derin anestezi altında intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edildi. Sakrifikasyonu takiben gruplardan kan ve spinal kord örnekleri alındı. Kord örnekleri klemplenen bölgenin 5mm kaudalinden alındı. Kan örnekleri 3000 devirde 12 dakika santrifüj edilerek süpernatantları alındı. Doku ve kan süpernatant örnekleri Baran Medikal (Çankaya/Ankara)'e TAS (Total Antioksidan Kapasite), TOS (Total Oksidan Kapasite) ve OSI (Oksidatif Stres Indexi) çalışılması için gönderildi. Patoloji örnekleri Amasya Sabuncuoğlu Eğitim Araştırma Hastanesi'ne patolojik çalışma için gönderildi.

3.6 Nörolojik Muayene

Deneklerin nörolojik muayeneleri postop 23.saatinde arka bacakların motor fonksiyonları modifiye Tarlov Skorlama sistemi kullanılarak değerlendirildi. Deneklere 0'dan 5'e kadar puan verildi.

Modifiye Tarlov Kriterleri:

- 0: Extremitelerde hareket yok
- 1: Minimal extremitte hareketi mevcut
- 2: Aktif hareket var ancak desteksiz oturamıyor
- 3: Desteksiz oturabiliyor ancak zıplayamıyor
- 4: Zıplama var ancak zayıf
- 5: Tam motor fonksiyon

3.7 Biyokimyasal Analiz

Dokularda ve serumlarda Total Oksidan Kapasite Ve Total Antioksidan kapasite biyokimyasal olarak çalışıldı. Total Oksidan Kapasite (TOS) hücre içi serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri gibi total oksidanların toplam etkisini ölçer.[65] Total Antioksidan Kapasite ise glutatyon, bilirubin, C ve E vitamini gibi antioksidan maddelerin toplam etkisini ölçer.[66] Oksidatif Stres İndeksi; TOS'un TAS'a oranıdır ve hücre içi oksidatif stresi ölçer. [67]

3.7.1 Doku Ve Serumda TAS/TOS/OSI Çalışma Prensibi

Sakrifikasyon sonrası intrakardiyak yolla alınan kanlar santrifüj cihazında 3000 devir/dakika' da santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar Eppendorf tüpüne alınarak – 20° C' de saklandı. Sakrifikasyon sonrası elde edilen spinal kord örnekleri ise alüminyum folyo içine saklanarak süpernatantlar ile birlikte -20°C' de işlemin yapılacağı laboratuvara transfer edildi.

3.7.1.1 TAS Çalışma Prensibi

TAS seviyeleri ticari kitler ile ölçüldü (Relessay, Türkiye). Bu yöntem ABTS (2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonunun antioksidanlar tarafından renk ağartılmasına (renk giderilmesine) dayanır. Test yüksek hassasiyet değerine sahiptir ve bu değer %3' ün altındadır. Sonuçlar mmol equivalent/L biçiminde sunulmuştur.

3.7.1.2 TOS Çalışma Prensibi

TOS seviyeleri, ticari olarak temin edilebilen kitler (Relassay, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Yeni yöntemde, örnekte bulunan oksidanlar, ferroz iyon-*o*-dianisidin kompleksini ferrik iyonla okside etti. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri tarafından artırıldı. Oluşan ferrik iyon, asidik ortamda ksilenol oranj ile renkli bir kompleks oluşturdu. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen bu renk yoğunluğu, örnekteki toplam oksidan moleküllerinin miktarıyla ilişkiliydi. Test, hidrojen peroksit ile kalibre edildi ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L) cinsinden ifade edildi.

3.7.1.3 OSI Çalışma Prensibi

TOS'un TAS'a oranı, oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kabul edildi. Hesaplama için, TAS'ın sonucu $\mu\text{mol/L}$ birimine dönüştürüldü.

3.8 Histopatolojik İnceleme

Sakrifikasyon sonrası spinal kordun T7-9 segmentinin 5mm kaudalinden elde edilen 0.5 cm uzunluğundaki doku örnekleri ışık mikroskopunda incelemek için, %10'luk formaldehit solüsyonunda 24 saat tespit edildi. Daha sonra doku örnekleri rutin histopatolojik tekniklere uygun olarak kasetlere konularak; alkol serilerinden ve ksilolden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Lamlar üzerine alınan kesitler hematoksilin – eozin (H-E) ile boyandıktan sonra Zeiss Primostar 3ışık mikroskobu (China), Zeiss Axiocam 208 kamera ve Zeiss Labscope 4.2.1 for Windows Görüntü Analiz Sistemi ile incelenerek fotoğraflar çekildi.

3.8.1 Hematoksilin-Eozin Boyama Yöntemi

Parafin bloklardan alınan kesitler lamlara yerleştirildi. Lamlar yaklaşık 2x15dk ksilende yıkanarak parafinden arındırıldı. Daha sonra sırasıyla %100, %95, %80 ve %70 etanol serilerinden geçirilerek distile suya alındı. Sonrasında lamlar yaklaşık 10dk

hematoksilen çözeltisine daldırılıp, amonyaklı su ile yıkanarak maviye çevrildi. Daha sonra lamalar Eozin çözeltisine yaklaşık 2dk daldırıldı. Sonrasında lamalar sırasıyla %70, %80, %95 ve %100 lük etanol solüsyonlarından geçirildi. Lamalar tekrar ksilen solüsyonlarına daldırılarak lameller ile kapatıldı.

4.BULGULAR

4.1 Histopatolojik Bulgular Ve İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, spinal kord hasarı sonrası oluşan histopatolojik değişikliklerin değerlendirilmesinde benzer çalışmalarda da kullanılan semi-kantitatif patolojik skorlama yöntemi kullanılmıştır.[68] Skorlama sırasında histolojik kesitlerde nekroz, ödem, nöron kaybı, hemoraji, konjesyon gibi parametreler incelenmiştir.

Mikroskopik değerlendirme, morfolojik bütünlüğü görmek amacıyla öncelikle 10x ve 20x büyütmelelerde yapılmış, ardından hücresel düzeyde detaylı analizler ve skorlamalar için 40x büyütme tercih edilmiştir. Bu yaklaşım, lezyonun hem makroskopik yayılımını hem de mikroskopik şiddetini güvenilir şekilde değerlendirmeyi mümkün kılar.

Literatürde de spinal kord hasarı modellerinde histopatolojik skorlama genellikle 40x büyütmede gerçekleştirilmekte olup, bu büyütme düzeyi nöronal kayıp, gliyal reaktivite ve hücresel infiltrasyon gibi parametrelerin güvenilir ölçümüne olanak tanır.[69]

Yapılan 40x büyütmede alandaki hücreler parametrelere göre sayıldı. 0=hücre yok, 1=1-5 hücre, 2=6-10 hücre, 3=10 veya daha fazla hücre olacak şekilde puanlandırma yapıldı. [70]

İstatistik analiz için SPSS 24 kullanıldı. Çalışmada veriler normal dağılım göstermediği ve sıralı verileri içerdiği için her grubun medyan değeri alınarak istatistiksel çalışma yapıldı. Gruplar arası istatistiksel çalışma Kruskal Wallis Test(Monte Carlo) Post Hoc Test : Dunn's Test yöntemi kullanılarak çalışıldı.

1. Grup (Kontrol) (Resim-3.1); Substansiya alba bölgesinde yoğun hemorajik alanlar, iskemik nöron hücreleri, ödem alanları, hücrel dejenerasyon ve vakuolizasyon görünümü ve nekroz artışı izlendi. Nöron kaybı diğer gruplara göre belirgindi. Tüm parametreler 4. Gruba göre anlamlı yüksekti. Patolojik skorun diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$).

1. Grup (Kontrol) (Resim- 3.2); Substansiya grisea bölgesinde yoğun hemorajik alanlar, iskemik nöron hücreleri, ödem alanları, hücrel dejenerasyon ve vakuolizasyon görünümü ve nekroz artışı izlendi. Nöron kaybı diğer gruplara göre belirgindi. Tüm parametreler 4. Gruba göre anlamlı yüksekti. Patolojik skorun diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$).

2. Grup (Bardoxolone) (Resim-4.1); Substansiya alba bölgesinde belirgin hemorajik alanlar gözlemlendi. Ayrıca iskemik nöron hücreleri, ödem alanları, hücrel dejenerasyon ve vakuolizasyon görünümü izlendi. Kontrol grubuna kıyasla nekroz ve ödemde azalma görüldü. Hemoraji ve nekroz bulguları 3. grupla benzerdi. 3. Grupla kıyaslandığında patolojik skor olarak anlamlı bir fark görülmedi. ($p>0.05$) Tüm parametreler 4. Gruba kıyasla anlamlı derecede yüksekti. ($p<0.05$)

2. Grup (Bardoxolone) (Resim-4.2); Substansiya grisea bölgesinde belirgin hemorajik alanlar gözlemlendi. Ayrıca iskemik nöron hücreleri, ödem alanları, hücrel dejenerasyon ve vakuolizasyon görünümü izlendi. Büyük motor nöronlar belirgin olarak izlendi. Kontrol grubuna kıyasla nekroz ve ödemde azalma görüldü. Nöron kaybı 1. Gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azalmıştı. Hemoraji ve nekroz 3. grupla benzerdi. 3. Grupla kıyaslandığında patolojik skor olarak anlamlı bir fark görülmedi. ($p>0.05$) Tüm parametreler 4. Gruba kıyasla anlamlı derecede yüksekti. ($p<0.05$)

3. Grup (Metilprednisolon) (Resim-5.1); Substansiya alba bölgesinde yoğun hemorajik alanlar, iskemik nöron hücreleri, ödem alanları, hücrel dejenerasyon ve vakuolizasyon görünümü ve nekroz artışı izlendi. Kontrol grubuna kıyasla daha az nekroz ve ödem görüldü. Ödem farkı 1. Ve 3. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p\approx 0.043$). Hemorajide kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik yoktu ($p\approx 0.209$). Hemoraji ve nekroz 2. grupla benzerdi. 2. Grupla arasında patolojik skor olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$). Tüm parametreler 4. Gruba kıyasla anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$).

3. Grup (Metilprednisolon) (Resim-5.2); Substansiya grisea bölgesinde yoğun hemorajik alanlar, iskemik nöron hücreleri, ödem alanları, hücrel dejenerasyon ve vakuolizasyon görünümü ve nekroz artışı izlendi. Kontrol grubuna kıyasla daha az nekroz ve ödem görüldü. Ödem farkı 1. Ve 3. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p \approx 0.043$). Nöron kaybı 1. Gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü. Hemorajide kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik yoktu ($p \approx 0.209$). Hemoraji ve nekroz 2. grupla benzerdi. 2. Grupla arasında patolojik skor olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0.05$). Tüm parametreler 4. Gruba kıyasla anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.05$).

4. Grup (Bardoxolone+Metilprednisolon) (Resim-6.1); Substansiya alba bölgesinde diğer gruplara kıyasla hemoraji, ödem, nekroz, konjesyon ve nöron kaybının azaldığı görüldü. Patolojik skorun diğer tüm gruplara göre anlamlı derecede düşük olduğu izlendi ($p < 0.05$).

4. Grup (Bardoxolone+Metilprednisolon) (Resim-6.2); Substansiya grisea bölgesinde diğer gruplara kıyasla hemoraji, ödem, nekroz, konjesyon, nöron kaybının ve vakuolizasyon alanlarının azaldığı görüldü. Patolojik skorun diğer tüm gruplara göre anlamlı derecede düşük olduğu izlendi ($p < 0.05$).

4. Grup (Bardoxolone+Metilprednisolon) (Resim-6.3); Substansiya alba ve substansiya grisea'nın birlikte izlendiği kesitte büyük motor nöronlar belirgin olarak izlendi. Ayrıca hemoraji, ödem, nekroz, konjesyon ve nöron kaybının ve vakuolizasyonun belirgin azaldığı görüldü. Patolojik skorun diğer tüm gruplara göre anlamlı derecede düşük olduğu izlendi ($p < 0.05$).

	1.Grup(Kontrol) (n=7)	2.Grup(Bardoxolone) (n=7)	3.Grup(Met;lpredn;solon) (n=7)	4.Grup(Bardoxolone+ Met;lpredn;solon) (n=6)	p
N	3(1-3)	2(1-3)	2(1-3)	1(0-2)	p<0.001
Ö	3(1-3)	3(2-3)	2(1-3)	1(1-3)	p<0.0002
NK	3(2-3)	2(1-3)	2(1-3)	1(1-3)	p<0.0001
H	3(2-3)	3(2-3)	2(1-3)	1(0-3)	p≈0.003
K	3(1-3)	2(2-3)	1(1-3)	1(0-2)	p<0.0001

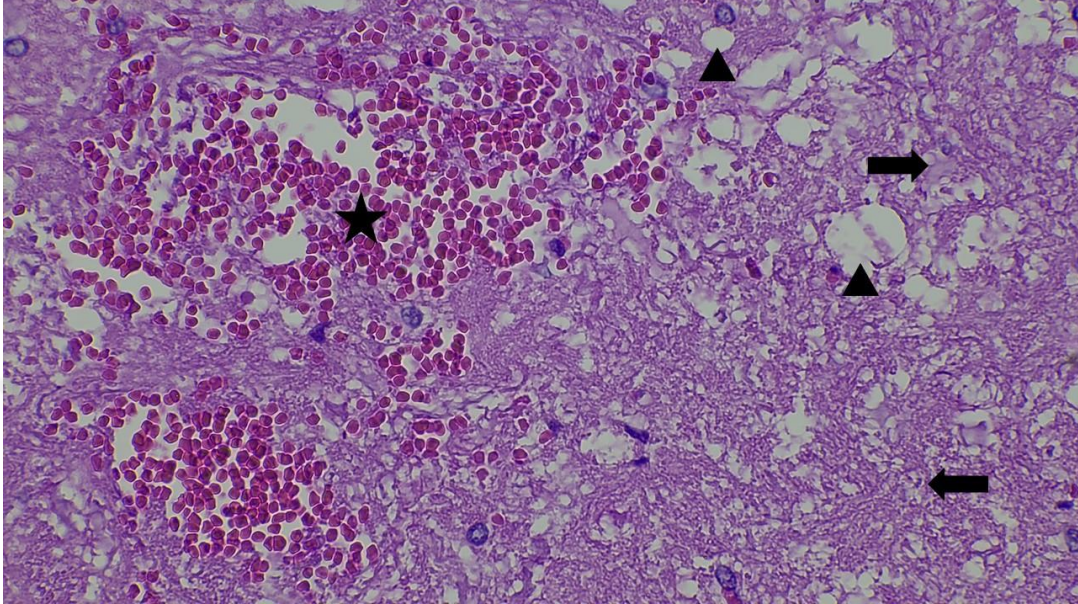
Tablo 3. Grupların parametrelere göre medyan değerleri (min-maks) ve gruplar arası p değerleri

(N= Nekroz, Ö= Ödem, NK= Nöron Kaybı, H= Hemoraji, K= konjesyon)

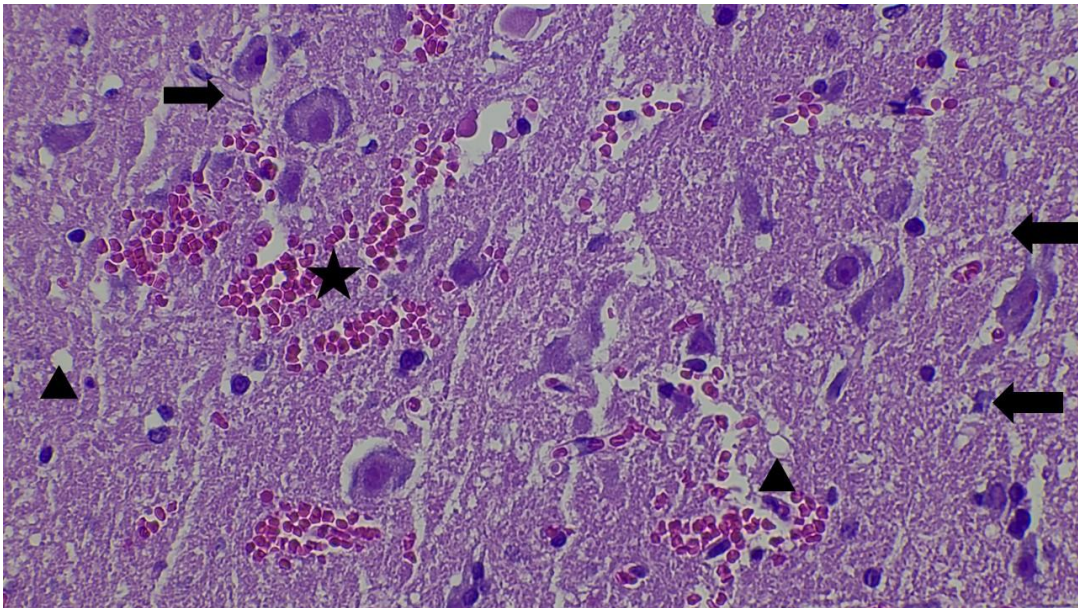
	1. Ve 2. Grup	1. Ve 3. Grup	1. Ve 4. Grup	2. Ve 3.Grup	2. Ve 4. Grup	3. Ve 4. Grup
N	p≈0.055	p≈0.055	p≈0.00006	p=1	p≈0.028	p≈0.028
Ö	p≈0.418	p≈0.043	p≈0.00034	p≈0.225	p≈0.005	p≈0.099
NK	p≈0.033	p≈0.013	p≈0.0004	p≈0.717	p≈0.047	p≈0.047
H	p≈0.209	p≈0.209	p≈0.001	p=1	p≈0.037	p≈0.037
K	p≈0.418	p≈0.418	p≈0.0005	p=1	p≈0.007	p≈0.007

Tablo 4. Gruplar arası parametrelerin istatistiksel karşılaştırılması

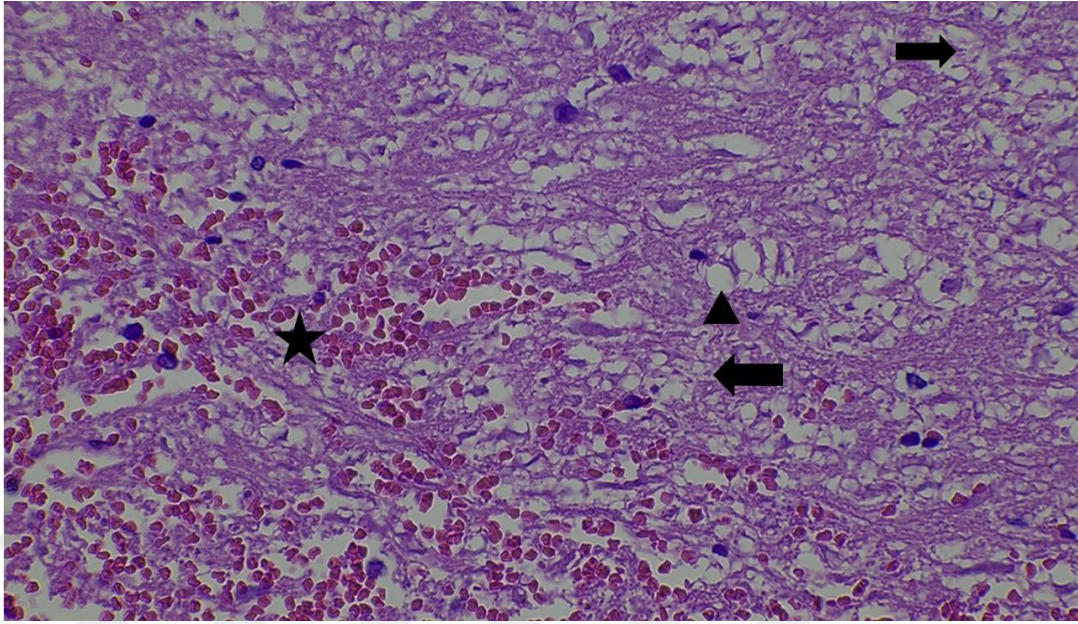
(N= Nekroz, Ö= Ödem, NK= Nöron Kaybı, H= Hemoraji, K= konjesyon)



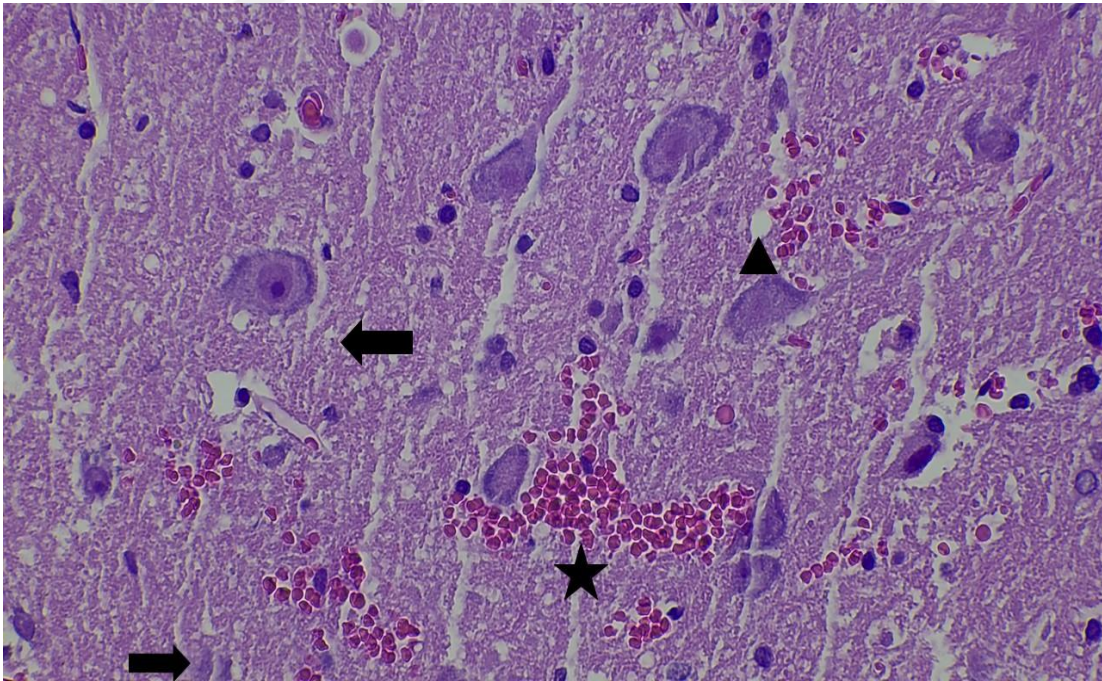
Resim-3.1 Kontrol Grubu (1.Grup); Substansiya alba kısmında yoğun hemorajik alanlar " ★ ", iskemik nöron hücreleri " ← ", ödem alanları " → ", hücresel dejenerasyon ve vakuolizasyon görünümü " ▲ " (H-E, X400).



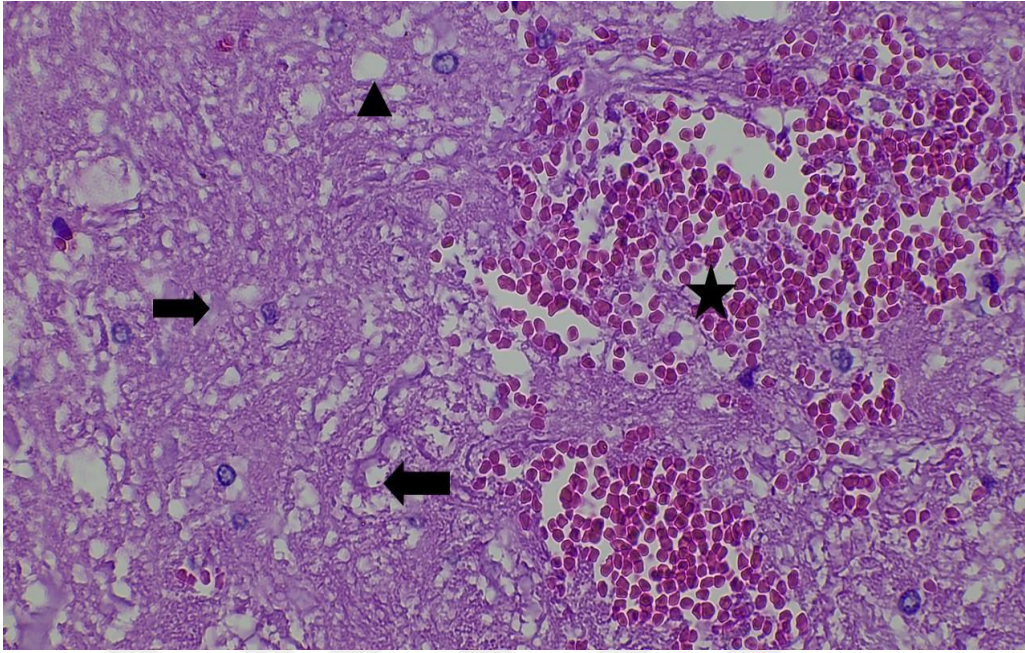
Resim-3.2 Kontrol Grubu (1.Grup); Substansiya grisea kısmında yoğun hemorajik alanlar " ★ ", iskemik nöron hücreleri " ← ", ödem alanları " → ", vakuolizasyon alanları " ▲ " (H-E, X400).



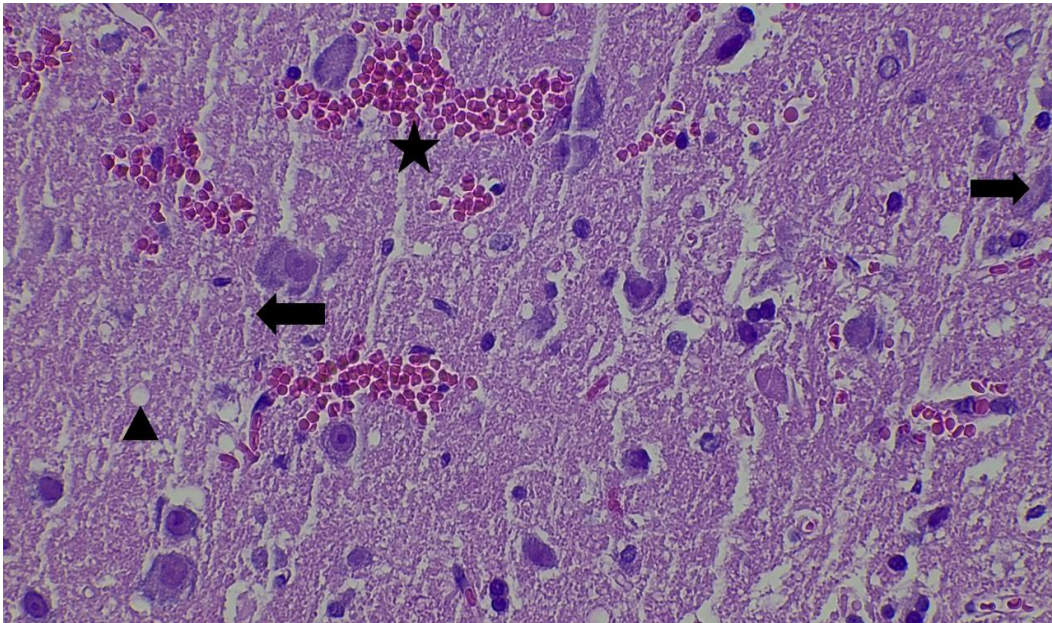
Resim-4.1 Bardoxolone Grubu (2.Grup); Substansiya alba kısmında hemorajik alanlar " ★ ",iskemik nöron hücreleri " ← ", ödem alanları " → ", vakuolizasyon görünümü " ▲ " (H-E, X400).



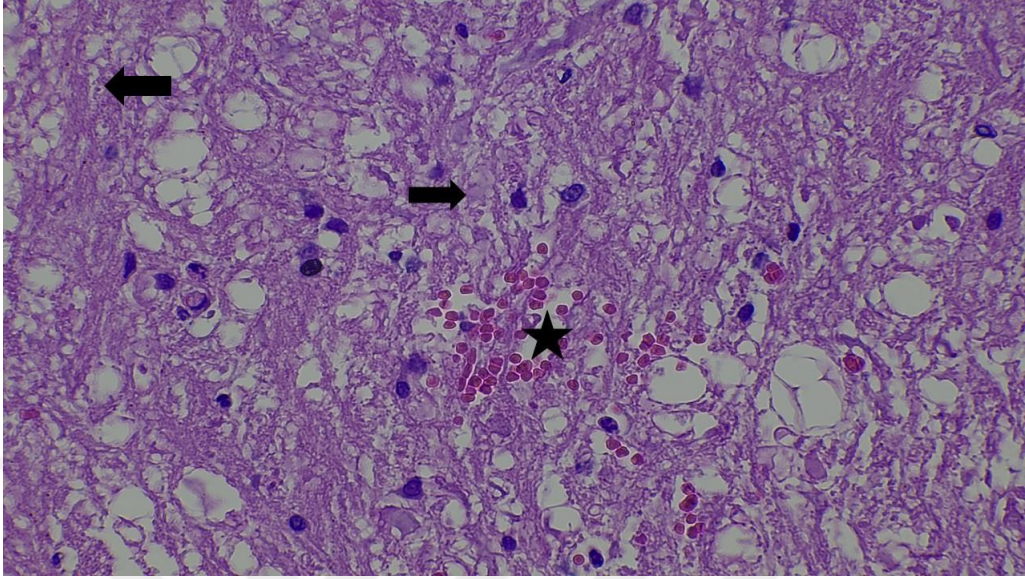
Resim-4.2 Bardoxolone Grubu (2.Grup); Substansiya grisea kısmında yoğun hemorajik alanlar " ★ ",iskemik nöron hücreleri " ← ", ödem alanları " → ", vakuolizasyon alanları " ▲ " (H-E, X400).



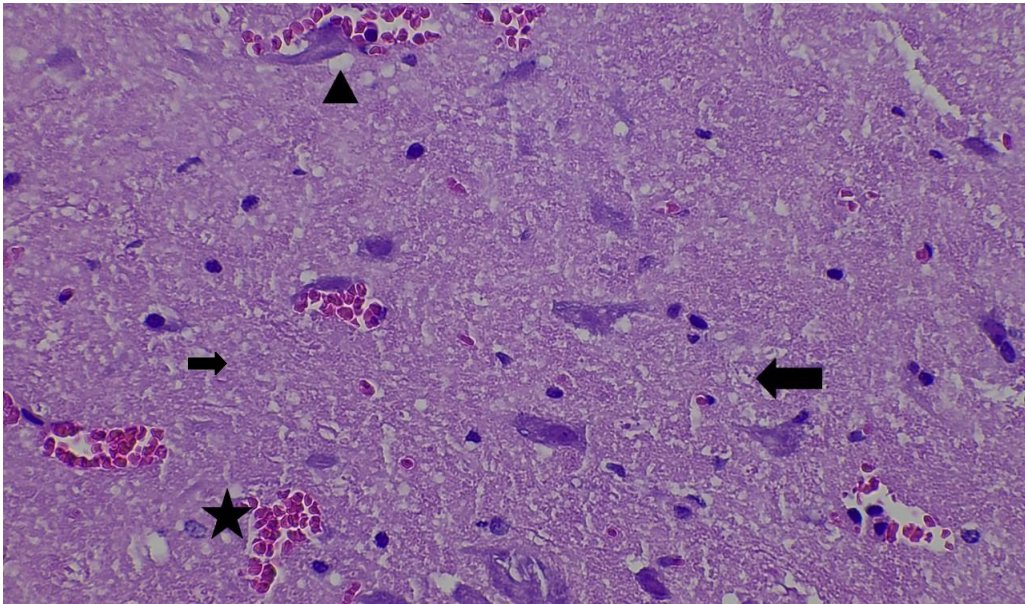
Resim-5.1 Metilprednisolon Grubu (3.Grup); Substansiya alba kısmında yoğun hemorajik alanlar "★", iskemik nöron hücreleri "←", ödem alanları "→", vakuolizasyon görünümü "▲" (H-E, X400).



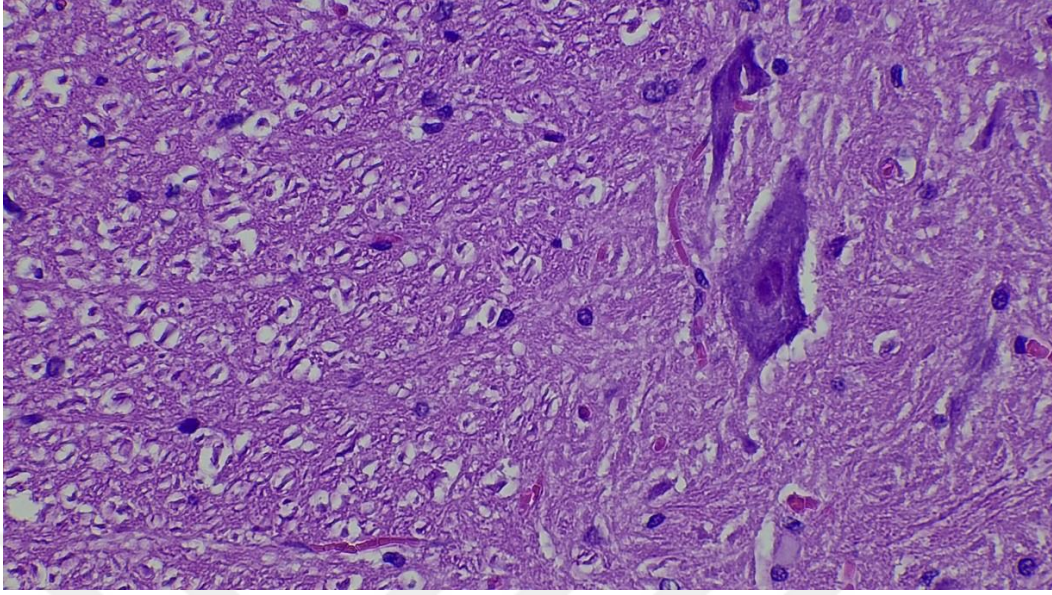
Resim-5.2 Metilprednisolon Grubu (3.Grup); Substansiya grisea kısmında yoğun hemorajik alanlar "★", iskemik nöron hücreleri "←", ödem alanları "→", vakuolizasyon alanları "▲" (H-E, X400).



Resim-6.1 Bardoxolone+Metilprednisolon Grubu (4.Grup); Substansiya alba kısmında hemorajik alanlarda belirgin azalma "★", iskemik nöron hücrelerinde belirgin azalma "←", ödem alanlarında belirgin azalma "→" (H-E, X400).



Resim-6.2 Bardoxolone+Metilprednisolon Grubu (4.Grup); Substansiya grisea kısmında azalmış hemorajik alanlar "★", iskemik nöron hücrelerinde azalma "←", ödem alanlarında azalma "→", vakuolizasyon alanlarında azalma "▲" (H-E, X400).



Resim-6.3 Bardoxolone+Metilprednisolon Grubu (4.Grup); Substansiya alba ve substansiya grisea kısımlarının beraber izlendiği kesit; hemorajide, atrofik hücre sayısında, nekroz ve ödem bulgularında azalma izlenmiştir (H-E, X400).

4.2 Biyokimyasal Bulgular Ve İstatistiksel Analiz

Deneklerden alınan doku ve süpernatant örnekleri -20°C'de muhafaza edilerek laboratuara gönderildi. Gönderilen süpernatantlarda her gruptan 1'er örnek uygun olmadığı için çalışılmadı. (Tablo-5) İstatistik analiz için SPSS 24 kullanıldı. Serum örneklerinde yapılan istatistiksel analizde Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. (Tablo-6) Normal dağılıma uyan parametreler ANOVA, normal dağılıma uymayan verilerin Kruskal-Wallis ile değerlendirilmesi planlandı. ANOVA için post-hoc test olarak Tukey, Kruskal-Wallis için post-hoc test olarak Dunn testi kullanılması planlandı. Ancak 2. serum grubunda parametrelere ait değerler normal dağılım göstermediği için istatistiksel yöntem olarak Kruskal-Wallis kullanıldı. Gruplar arası değerlendirmede TAS ve OSI açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.075$ ve $p=0.136$). TOS ise gruplar arasında anlamlı derecede farklılık gösterdi ($p=0.044$). (Tablo-7) Post hoc ikili karşılaştırmalarda 1 ve 3. gruplar arasında ($p=0.008$) ve 2 ve 3. gruplar arasında ($p=0.027$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Bonferroni düzeltmesi uygulandıktan sonra ise sadece 1 ve 3. gruplar arasında ($p=0.050$) anlamlı fark saptandı. (Tablo-8)

Numune Adı	TAS(mmol/L)	TOS (μmol/L)	OSI
S1-1	2,07	6,44	0,311
S1-2	2,24	3,53	0,157
S1-3	2,02	4,59	0,228
S1-4	1,96	2,82	0,143
S1-5	1,90	4,90	0,258
S1-6	1,77	3,64	0,206
S2-1	3,08	30,70	0,998
S2-2	2,07	7,32	0,354
S2-3	1,99	3,83	0,192
S2-4	2,05	3,45	0,168
S2-5	2,02	2,41	0,120
S2-6	2,16	4,57	0,212
S3-1	2,78	9,36	0,337
S3-2	1,75	9,36	0,536
S3-3	2,32	6,72	0,289
S3-4	2,26	5,56	0,246
S3-5	2,19	7,58	0,346
S3-6	2,12	8,05	0,379
S4-1	2,27	3,92	0,172
S4-2	2,16	7,71	0,358
S4-3	2,27	7,48	0,329
S4-4	2,18	4,72	0,216
S4-5	2,29	4,58	0,200

Tablo 5. Deneklerin gruplara göre serumda TAS/TOS/OSI değerleri

(S1: 1.grup; S2: 2.grup; S3: 3.grup; S4: 4.grup)

Grup	p	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TAS	1	,149	6	,200*	,992	6	,994
	2	,398	6	,003	,620	6	,001
	3	,235	6	,200*	,945	6	,703
	4	,328	5	,084	,828	5	,134
TOS	1	,202	6	,200*	,949	6	,730
	2	,384	6	,006	,630	6	,001
	3	,190	6	,200*	,933	6	,601
	4	,306	5	,141	,823	5	,123
OSI	1	,164	6	,200*	,964	6	,854
	2	,318	6	,058	,696	6	,006
	3	,240	6	,200*	,904	6	,396
	4	,281	5	,200*	,870	5	,268

Tablo 6. Verilerin Shapiro-Wilk ile analizi

	TAS	TOS	OSI
p değeri	,075	,044	,136

Tablo 7. Kruskal-Wallis TAS/TOS/OSI p değerleri

	p	p*
S1-S2	0.67	1
S1-S4	0.246	1
S1-S3	0.008	0.05
S2-S4	0.450	1
S2-S3	0.027	0.161
S4-3	0.175	1

Tablo 8. Post-hoc Dunn testi ile verilerin ikili analizi

(*:Bonferonni düzeltmesi sonrası; **S1:** 1.grup; **S2:** 2.grup; **S3:** 3.grup; **S4:** 4.grup)

Deneklerden alınan dokularda TAS/TOS/OSI analizi yapıldı. Çalışmada kullanılan spinal kord örneklerinin bir kısmı hacim ve içerik açısından analiz için yetersiz bulunmuştur. Bu nedenle, gruplar içerisindeki örnekler havuzlanarak (pooling) tekil analizler gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, örnek kaybını minimize etmek ve teknik tekrar yapılabilirliğini sağlamak amacıyla tercih edilmiştir.[71] Ancak bu durum, grup içi biyolojik varyasyonun değerlendirilmesini kısıtladığından, istatistiksel analizler yapılamamıştır. Havuzlanan gruplar BCA (Bicinchoninic Acid) protein protokolü ile çalışılmıştır. Çalışmada 1. grupta (kontrol) TAS değerinin diğer gruplara göre düşük olduğu, OSI değerinin ise diğer gruplara göre yüksek olduğu görüldü. 4.grupta ise TAS değerinin diğer gruplardan yüksek olduğu (özellikle kontrol grubundan), OSI değerinin ise diğer gruplardan düşük olduğu izlendi. 2. Ve 3. Grupta ise değerler nispeten birbirine yakın çıktı.(Tablo-9)

Numune Adı	TAS(mmol/L)	TOS (μmol/L)	OSI
Grup-1 (n=7)	0,01	4,06	35,352
Grup-2 (n=7)	0,63	9,08	1,450
Grup-3 (n=7)	0,57	7,68	1,346
Grup-4 (n=6)	0,78	8,31	1,067

Tablo 9. BCA protein protokolü kullanılarak yapılan havuzlama işlemi sonrası değerler

4.3 Nörolojik Bulgular

Tüm grupların ilaç uygulamasından sonra 23.saatte motor işlevleri incelendi. Sonuçlar Modifiye Tarlov Skorlaması kullanılarak değerlendirildi. Kontrol (1. Grup) grubunda total parapleji izlenirken 2. Ve 3. Grupta ortalama skor sırasıyla 1.71 ve 2 olarak değerlendirildi. 4. Grupta ise skor ortalama 3.33 olarak değerlendirildi. Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıydı. ($p<0.001$) (Tablo-10)

	1. Grup (n=7)	2. Grup (n=7)	3. Grup (n=7)	4. Grup (n=6)	P değeri
Ortalama Skor	0(0)	1.71(± 0.82)	2(± 0)	3.33(± 0.52)	$p<0.001$

Tablo 10. Modifiye Tarlov Skorlaması ortalama değer(standart sapma) istatistiksel analiz

5. TARTIŞMA

Spinal kord hasarı sıklıkla görülen ciddi bir sağlık sorunudur. Hastalar ve ailelerini etkileyen, sosyoekonomik, fonksiyonel ve psikolojik sorunlara yol açar. Özellikle genç bireylerde oluşan spinal kord hasarı ülkelerde hem medikal bir yük oluşturur hem de bakıma muhtaç olan bu kişilerde iş kaybı ve ekonomik problemler ortaya çıkarır. Spinal kord hasarı sonrası oluşan nöron hasarı ve fonksiyonel kaybı engellemek için çeşitli tedavi yöntemleri geliştirilmektedir.[72]

Spinal kord hasarında hasar primer ve sekonder faz olarak ikiye ayrılmıştır. Primer faz olay anında olur ve herhangi bir tedavi edici farmakolojik yöntemi yoktur. Sekonder faz ise primer fazı takiben hasarlı bölgede oluşan iskemi, nöroinflamasyon, serbest radikal oluşumları gibi olayların geliştiği fazdır. Sekonder faz gelişimi nedeniyle kord hasarı artabilir ve hastanın nörolojik kötüleşmesine sebep olur. Güncel tedavi metodları sekonder fazı hedef almaktadır.[73]

1911 yılında Allen'ın köpekler üzerinde yaptığı deneysel spinal kord hasarı modelinde hasar sonrası oluşan hematomyelinin temizlenmesi sonrası deneklerde nörolojik iyileşmenin olduğunu gözlemiş ve sekonder hasar mekanizmasının temelini oluşturmuştur. [74]

A. R. Coughlan 1993 yılında yaptığı çalışmada akut spinal kord hasarı sonrası gelişen sekonder hasarı; iskemi, intranöronal kalsiyum artışı ve serbest radikal oluşumuna bağlı lipid peroksidasyonu olarak üç ana başlıkta toplamıştır.[75]

Kord hasarı sonrası mikrosirkülasyonun bozulması, travmaya cevap olarak vazokonstrüksiyon oluşması, vasküler hasarlar nedeniyle hasarlı bölgede iskemi oluşumu hızlanır.[76] İskemi sonrası dokuların oksijenizasyonu bozulur ve hücre içinde serbest radikal oluşumu, reaktif oksijen radikallerini nedeniyle gelişen lipid peroksidasyonu gelişir. Nöronal hücrelerde bozulan sodyum, potasyum, hidrojen ve kalsiyum dengesi nedeniyle glutamat salınımı artar ve eksotoksite oluşur. Yine oluşan oksidatif stres ve kalsiyum artışı nedeniyle hücre içinde mitokondrilerin çalışma

dinamiği bozulur, hücre enerji üretemez hale gelir ve yüksek kalsiyum nedeniyle hücre içinde kalpain aktivasyonu gerçekleşir. Bu aktivasyon sonrası apoptoz hızlanır.[77]

Spinal kord hasarı sonrası gelişen bu sekonder fazı hedefleyen çalışmalarda halen kesin bir tedavi bulunamamıştır. Denenen bir çok farmakolojik ajan bir tedavi protokolüne girememiştir. [49] Sentetik bir mineralokortikoid olan Metilprednisolon yapılan NASCIS deneysel çalışmalarında; özellikle ilk 24 saatte uygulandığında motor fonksiyonları istatistiksel olarak anlamlı düzelttiği gösterilmiştir. Ancak 24 saat sonrası yapılan Metilprednisolon uygulamalarının motor fonksiyonlarda anlamlı düzelme sağlamadığı, spinal travması olan hastaların genelde ek travmalarının olması nedeniyle yoğun bakım takiplerinde enfeksiyon (özellikle pnömoni) artışı ve yara yeri iyileşmesinin bozulması, gastrointestinal sistemde kanama riskinin artışı gibi kontrendikasyonlarının olduğu gösterilmiştir.[54, 55, 57] Bu yüzden çalışmamızda ilk 24 saatte oluşan akut dönem değerlendirilmiştir.

Bardoxolone Methyl (BARD) sentetik bir tripertonoiddir. . Sentetik olarak üretilen 2-siyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oik asit (CDDO)' dan daha güçlü antiinflamatuvar etkinliğe sahiptir. [59] Nrf2 (Nuclear factor [erythroid-derived 2]-like 2) dokularda bulunan anti-inflamatuvar sekresyonda görev alan bir transkripsiyon faktörüdür. Yapılan kardiyovasküler hastalık modeli çalışmalarında Nfr-2 aktivasyonunun oksidatif stresi azalttığı, antioksidan enzimlerinin azaldığı gösterilmiştir.[78] Kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarda BARD uygulamasının GFR (Glomeruler Filtrasyon Hızı)'yi arttırdığı gösterilmiştir.[79] Başka bir çalışmada farelerde serebral iskemi modeli oluşturularak Warfarin ile BARD' ın iskemi sonrası etkileri incelenmiş olup BARD'ın Warfarin'e göre kan beyin bariyerini daha fazla koruduğu, serebral enfarkt alanının daha az olduğu, oluşan iskemi/reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir.[80]

Çalışmamızda spinal kord klempleme yöntemi kullanıldı. Klempleme sonrası ilk 24 saatte oluşan akut hasar sonrası nörolojik fonksiyon değerlendirmesi için Modifiye Tarlov Skorlaması, doku ve serumda Total Antioksidan Kapasite, Total Oksidan Kapasite, Oksidatif Stres Index'i ve dokularda histopatolojik çalışma yapıldı.

Total Oksidan Kapasite; dokuda oluşan reaktif oksijen ve reaktif azot türlerini, lipid peroksitlerini, serbest radikalleri ve metal katalizörleri ölçen kolorimetrik bir ölçümdür. [81] Total Antioksidan Kapasite; dokuda bulunan non-enzimatik (Vitamin C, Vitamin E, Glutasyon.. gibi) ve enzimatik (Katalaz, Süperoksit dismutaz, Glutasyon redüktaz, Glutasyon Peroksidaz gibi) antioksidan materyalleri ölçer.[82] Total Oksidan Kapasitenin Total Antioksidan Kapasiteye oranı ise Oksidatif Stres İndeksini gösterir.

Çalışmamızda Modifiye Tarlov Skorlaması kullanılarak yapılan fonksiyonel değerlendirmede kontrol grubunun parapleji nedeniyle ortalama skorun en düşük olduğu(0), bardoxolone methyl ve metilprednisolon kombine uygulanan grupta ise ortalama skorun en yüksek olduğu(3.33) görüldü. Bardoxolone methyl uygulanan grupta(2. grup) ortalama skor 1.71, Metilprednisolon uygulanan grupta (3. grup) ise ortalama skor 2 idi.

Deneklerin kanından elde edilen serumlarda çalışılan TAS/TOS/OSI değerlerinde gruplararası istatistiksel çalışmada TAS ve OSI değerlerinde anlamlı fark yoktu. Bonferroni düzeltmesinden sonra istatistiksel olarak TOS değerleri 1. Ve 3. Grup arasında anlamlı geldi. Metilprednisolon uygulanan grupta serum Total Oksidan Kapasite iskemi grubuna göre anlamlı yüksek idi.

Deneklerden alınan dokularda TAS/TOS/OSI çalışıldı. Alınan örneklerin bir kısmının hacim ve içerik açısından çalışma için yeterli olmadığı görüldüğünden BCA metodu kullanılarak havuzlama yapıldı. Havuzlama yapıldığı için istatistiksel olarak çalışma yapılamadı. Çalışma sonrası çıkan değerlerde 1.grupta TAS değerinin en düşük olduğu (0.01), OSI değerinin en yüksek olduğu (35,352) görüldü. 4. Grupta ise TAS değerinin en yüksek olduğu (0,78), OSI değerinin en düşük olduğu (1,067) görüldü. TOS çalışmasında en yüksek değer 2.grupta (9,08), en düşük 1.grupta (4,06) görüldü. Bardoxolon Methyl ve Metilprednisolon ayrı ayrı uygulanan gruplarda iskemi grubuna göre daha yüksek Total Antioksidan Kapasite ölçüldü. Kombine kullanımda ise bu fark daha yüksek idi. Yine kombine uygulanan grupta iskemi grubuna göre Oksidatif Stres

İndeksi anlamlı düşük olarak ölçüldü. Bardoxolone Methyl ve Metilprednisolon'un ayrı ayrı uygulandığı gruplarda da Oksidatif Stres İndeksi iskemi grubuna göre düşüktü.

Doku örneklerinde histopatolojik çalışma yapıldı. Yapılan çalışmada patolojik skor oluşturularak değerlendirildi. Patolojik skor oluşturulurken Nekroz, Ödem, Nöron Kaybı, Hemoraji, Konjesyon parametreleri ele alındı. Oluşturulan skorların grup başına medyan değerleri alındı. (0=yok, 1= Çok az, 2=Az, 3=Orta, 4=Ciddi)

1. Grup'ta nekroz,ödem, konjesyonun yüksek olduğu görüldü. Tüm parametreler 4. Gruba göre anlamlı yüksekti. 2. Ve 3. Grupta ise 1. Gruba göre nekroz ve ödem daha az idi. 2. Ve 3.grupta patolojik skorlar benzer idi. 4. Grupta ise diğer gruplara kıyasla tüm parametrelerde skorlamada düşük idi. 1. Grupta Patolojik skorun diğer gruplara göre anlamlı yüksek olduğu görüldü.($p<0.05$) 4. Grupta ise patolojik skorun diğer tüm gruplara göre anlamlı düşük olduğu izlendi.($p<0.05$)

Başka bir yapılan çalışmada deneysel spinal kord hasarı modeli sonrası Valproik Asit kullanımında TAS/TOS/OSI çalışılmış olup; Valproik Asit'in bu parametreler ışığında oksidatif stresi azalttığı, total antioksidan kapasiteyi arttırdığı gösterilmiştir.[83]

Yine yapılan başka bir deneysel spinal kord hasarı modelinde Tosilizumab kullanımında TAS/TOS/OSI çalışılmış olup; Tosilizumab'ın total oksidan kapasiteyi azalttığı, antioksidan kapasiteyi arttırdığı ve oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir.[84]

Bizim çalışmamızda ise; serumda çalışılan TAS/TOS/OSI parametrelerinde anlamlı fark görülme de dokuda çalışılan TAS/TOS/OSI parametrelerinde özellikle kombine Bardoxolone Methyl ve Metilprednisolon kullanımının hücre oksidatif stresini azalttığı, yine kombine kullanımda patolojik skorda anlamlı düşme sağladığı gösterildi.

Bu çalışmanın ışığında spinal kord akut hasarı akut döneminde tek başına Bardoxolone Methyl bileşiğinin nöroprotektif olarak Metilprednisolona anlamlı bir üstünlüğü bulunmasada ikisinin kombine kullanımı için ileri düzey çalışmalar yapılabilir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada Sprague Dawley cins ratlarda spinal kord klemleme yöntemi kullanılarak spinal kord hasarı oluşturuldu. Hasar sonrası gruplara ayrılmış olan deneklerde 1.gruba herhangi bir ilaç verilmedi. 2.gruba Bardoxolone Methyl, 3.gruba Metilprednisolon, 4.gruba ise Bardoxolone Methyl+Metilprednisolon uygulandı. Spinal kord hasarı akut dönem planlandığı için uygulama sonrası 23.saatte motor muayene bakıldı. 24. Saatte sakrifiye edilen deneklerden alınan serum ve doku örnekleri ile biyokimyasal ve histopatolojik çalışma yapıldı.

Yapılan çalışmalar sonrası kombine tedavi yönteminin diğer tedavi yöntemlerine göre nöroprotektif olarak daha üstün olduğu, Bardoxolone Methyl ve Metilprednisolonun tek başına uygulandığında birbirine anlamlı üstünlük sağlamadığı görülmüştür.

Henüz spinal kord hasarında tedavi yöntemi olarak kullanılmayan Bardoxolone Methyl bileşiğinin yapılan çalışma sonrası nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir. Bu çalışma spinal kord hasarında yapılan tedavi çalışmalarına ışık tutacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Cho, T.A., *Spinal cord functional anatomy*. Continuum (Minneap Minn), 2015. **21**(1 Spinal Cord Disorders): p. 13-35.
2. Barbiellini Amidei, C., et al., *Epidemiology of traumatic spinal cord injury: a large population-based study*. Spinal Cord, 2022. **60**(9): p. 812-819.
3. Eckert, M.J. and M.J. Martin, *Trauma: Spinal Cord Injury*. Surg Clin North Am, 2017. **97**(5): p. 1031-1045.
4. Wood, K.B., et al., *Management of thoracolumbar spine fractures*. Spine J, 2014. **14**(1): p. 145-64.
5. Jain, N.B., et al., *Traumatic spinal cord injury in the United States, 1993-2012*. Jama, 2015. **313**(22): p. 2236-43.
6. Eli, I., D.P. Lerner, and Z. Ghogawala, *Acute Traumatic Spinal Cord Injury*. Neurol Clin, 2021. **39**(2): p. 471-488.
7. Imai, T., et al., *Nrf2 activator ameliorates hemorrhagic transformation in focal cerebral ischemia under warfarin anticoagulation*. Neurobiol Dis, 2016. **89**: p. 136-46.
8. Bowers, C.A., B. Kundu, and G.W. Hawryluk, *Methylprednisolone for acute spinal cord injury: an increasingly philosophical debate*. Neural Regen Res, 2016. **11**(6): p. 882-5.
9. Cheung, V., et al., *Methylprednisolone in the management of spinal cord injuries: Lessons from randomized, controlled trials*. Surg Neurol Int, 2015. **6**: p. 142.
10. Öztürk, Ö. and A. Börcek, *Omurga ve Omurilik Embriyolojisi: Nöral Tüp Defektlerinin Gelişim Süreci*. Spinal ve Periferik Sinir Cerrahisi Bülteni, 2024(103).
11. Rossi, A., et al., *Imaging in spine and spinal cord malformations*. Eur J Radiol, 2004. **50**(2): p. 177-200.
12. Bican, O., A. Minagar, and A.A. Pruitt, *The Spinal Cord: A Review of Functional Neuroanatomy*. Neurologic Clinics, 2013. **31**(1): p. 1-18.
13. Akshay, K. and J. Vinita, *Orthoses in Spinal Cord Injury Rehabilitation Management and Improving Quality of Life*, in *Spinal Cord Injury*, R. Luca, et al., Editors. 2023, IntechOpen: Rijeka. p. Ch. 3.
14. Cramer, G.D. and S.A. Darby, *Clinical anatomy of the spine, spinal cord, and ANS*. 2013.

15. Cramer, G.D. and S.A. Darby, *Basic and Clinical Anatomy of the Spine, Spinal Cord, and ANS-E-Book: Basic and Clinical Anatomy of the Spine, Spinal Cord, and ANS-E-Book*. 2005.
16. Sheerin, F., *Spinal cord injury: anatomy and physiology of the spinal cord*. emergency nurse, 2004. **12**(8).
17. Rexed, B., *The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat*. Journal of Comparative Neurology, 1952. **96**(3): p. 415-495.
18. Ganapathy, M.K., V. Reddy, and P. Tadi, *Neuroanatomy, Spinal Cord Morphology*. 2023: StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
19. Hachem, L.D., A. Moghaddamjou, and M.G. Fehlings, *Chapter 1 - Anatomy*, in *Neural Repair and Regeneration After Spinal Cord Injury and Spine Trauma*, M.G. Fehlings, et al., Editors. 2022, Academic Press. p. 1-12.
20. Nicholas, D.S. and R.O. Weller, *The fine anatomy of the human spinal meninges: a light and scanning electron microscopy study*. Journal of neurosurgery, 1988. **69**(2): p. 276-282.
21. Santillan, A., et al., *Vascular anatomy of the spinal cord*. J Neurointerv Surg, 2012. **4**(1): p. 67-74.
22. Borg, N., et al., *Anatomy of Spinal Venous Drainage for the Neurointerventionalist: From Puncture Site to Intervertebral Foramen*. American Journal of Neuroradiology, 2022.
23. Ahuja, C.S., et al., *Traumatic Spinal Cord Injury-Repair and Regeneration*. Neurosurgery, 2017. **80**(3s): p. S9-s22.
24. Witiw, C.D. and M.G. Fehlings, *Acute Spinal Cord Injury*. Clinical Spine Surgery, 2015. **28**(6): p. 202-210.
25. Rogers, W.K. and M. Todd, *Acute spinal cord injury*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2016. **30**(1): p. 27-39.
26. Tator, C.H., *Update on the Pathophysiology and Pathology of Acute Spinal Cord Injury*. Brain Pathology, 1995. **5**(4): p. 407-413.
27. Anjum, A., et al., *Spinal Cord Injury: Pathophysiology, Multimolecular Interactions, and Underlying Recovery Mechanisms*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(20).
28. Ahuja, C.S., et al., *Traumatic spinal cord injury*. Nature Reviews Disease Primers, 2017. **3**(1): p. 17018.
29. Nelson, E., et al., *Spinal cord injury: The role of vascular damage in the pathogenesis of central hemorrhagic necrosis*. Archives of neurology, 1977. **34**(6): p. 332-333.

30. Anderson, D.K., et al., *Spinal cord injury and protection*. Annals of Emergency Medicine, 1985. **14**(8): p. 816-821.
31. McDonald, J.W. and C. Sadowsky, *Spinal-cord injury*. The Lancet, 2002. **359**(9304): p. 417-425.
32. Park, E., A.A. Velumian, and M.G. Fehlings, *The Role of Excitotoxicity in Secondary Mechanisms of Spinal Cord Injury: A Review with an Emphasis on the Implications for White Matter Degeneration*. Journal of Neurotrauma, 2004. **21**(6): p. 754-774.
33. Becker, D., C.L. Sadowsky, and J.W. McDonald, *RESTORING FUNCTION AFTER SPINAL CORD INJURY*. The Neurologist, 2003. **9**(1): p. 1-15.
34. Amar, A.P. and M.L. Levy, *Pathogenesis and Pharmacological Strategies for Mitigating Secondary Damage in Acute Spinal Cord Injury*. Neurosurgery, 1999. **44**(5): p. 1027-1039.
35. Janssens, L.A.A., *Mechanical and pathophysiological aspects of acute spinal cord trauma*. Journal of Small Animal Practice, 1991. **32**(11): p. 572-578.
36. Roberts, S.B. and A.I. Tsirikos, *Spinal cord injury: pathophysiology and principles of management*. Orthopaedics and Trauma, 2024. **38**(5): p. 264-272.
37. Oyinbo, C., *Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade*. Acta neurobiologiae experimentalis, 2011. **71**(2): p. 281-299.
38. Resnick, D.K., et al., *Role of Cyclooxygenase 2 in Acute Spinal Cord Injury*. Journal of Neurotrauma, 1998. **15**(12): p. 1005-1013.
39. Schwab, J.M., et al., *Persistent accumulation of cyclooxygenase-1 (COX-1) expressing microglia/macrophages and upregulation by endothelium following spinal cord injury*. Journal of Neuroimmunology, 2000. **111**(1): p. 122-130.
40. Emery, E., et al., *Apoptosis after traumatic human spinal cord injury*. Journal of Neurosurgery, 1998. **89**(6): p. 911-920.
41. Kwon, B.K., et al., *Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury*. The spine journal, 2004. **4**(4): p. 451-464.
42. Lee, Y.B., et al., *Role of Tumor Necrosis Factor- α in Neuronal and Glial Apoptosis after Spinal Cord Injury*. Experimental Neurology, 2000. **166**(1): p. 190-195.
43. Chi, L.-Y., et al., *The dual role of tumor necrosis factor-alpha in the pathophysiology of spinal cord injury*. Neuroscience Letters, 2008. **438**(2): p. 174-179.
44. Furlan, J.C., et al., *Motor and Sensory Assessment of Patients in Clinical Trials for Pharmacological Therapy of Acute Spinal Cord Injury: Psychometric Properties of the ASIA Standards*. Journal of Neurotrauma, 2008. **25**(11): p. 1273-1301.

45. Maynard, F.M., Jr., et al., *International Standards for Neurological and Functional Classification of Spinal Cord Injury*. American Spinal Injury Association. Spinal Cord, 1997. **35**(5): p. 266-74.
46. Gunduz, B., *ASIA Update-ASIA Impairment Scale: Level Determination, Classification, and Examples*. Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi, 2015. **61**: p. 25-31.
47. Tsaklis PhD, P., *OCCUPATIONAL SPINAL CORD INJURY – EPIDEMIOLOGY AND COSTS*. 2015.
48. Carlson, G.D. and C. Gorden, *Current developments in spinal cord injury research*. The Spine Journal, 2002. **2**(2): p. 116-128.
49. Kim, Y.-H., K.-Y. Ha, and S.-I. Kim, *Spinal cord injury and related clinical trials*. Clinics in orthopedic surgery, 2017. **9**(1): p. 1-9.
50. Baptiste, D.C. and M.G. Fehlings, *Emerging drugs for spinal cord injury*. Expert Opinion on Emerging Drugs, 2008. **13**(1): p. 63-80.
51. Ahuja, C.S., et al., *Traumatic Spinal Cord Injury—Repair and Regeneration*. Neurosurgery, 2017. **80**(3S): p. S9-S22.
52. Hall, E.D., *The neuroprotective pharmacology of methylprednisolone*. Journal of neurosurgery, 1992. **76**(1): p. 13-22.
53. Hall, E.D. and J.M. Braughler, *Glucocorticoid mechanisms in acute spinal cord injury: A review and therapeutic rationale*. Surgical Neurology, 1982. **18**(5): p. 320-327.
54. Rouanet, C., et al., *Traumatic spinal cord injury: current concepts and treatment update*. Arquivos de neuro-psiquiatria, 2017. **75**: p. 387-393.
55. Coleman, W.P., et al., *A Critical Appraisal of the Reporting of the National Acute Spinal Cord Injury Studies (II and III) of Methylprednisolone in Acute Spinal Cord Injury*. Clinical Spine Surgery, 2000. **13**(3): p. 185-199.
56. Fehlings, M.G., J.R. Wilson, and N. Cho, *Methylprednisolone for the Treatment of Acute Spinal Cord Injury: Counterpoint*. Neurosurgery, 2014. **61**: p. 36-42.
57. Canseco, J.A., et al., *Updated Review: The Steroid Controversy for Management of Spinal Cord Injury*. World Neurosurgery, 2021. **150**: p. 1-8.
58. Evaniew, N., et al., *Methylprednisolone for the Treatment of Patients with Acute Spinal Cord Injuries: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Journal of Neurotrauma, 2016. **33**(5): p. 468-481.

59. Wang, Y.-Y., et al., *Bardoxolone methyl (CDDO-Me) as a therapeutic agent: an update on its pharmacokinetic and pharmacodynamic properties*. Drug Design, Development and Therapy, 2014. **8**(null): p. 2075-2088.
60. Zoja, C., A. Benigni, and G. Remuzzi, *The Nrf2 pathway in the progression of renal disease*. Nephrology Dialysis Transplantation, 2013. **29**(suppl_1): p. i19-i24.
61. Rojas-Rivera, J., A. Ortiz, and J. Egido, *Antioxidants in kidney diseases: the impact of bardoxolone methyl*. International journal of nephrology, 2012. **2012**(1): p. 321714.
62. Al-Mudhaffer, R.H., et al., *Bardoxolone ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury in Male rats*. Annals of Tropical Medicine and Public Health, 2019. **22**(4): p. 122-130.
63. Kalvala, A.K., et al., *Bardoxolone Methyl Ameliorates Hyperglycemia Induced Mitochondrial Dysfunction by Activating the keap1-Nrf2-ARE Pathway in Experimental Diabetic Neuropathy*. Molecular Neurobiology, 2020. **57**(8): p. 3616-3631.
64. Linker, R.A., et al., *Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway*. Brain, 2011. **134**(3): p. 678-692.
65. Sepici-Dinçel, A., et al., *The association between total antioxidant status and oxidative stress in Behçet's disease*. Rheumatol Int, 2006. **26**(11): p. 1005-9.
66. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. 2015: Oxford university press.
67. Fırat Oğuz, E., et al., *The Turkish Journal of Occupational / Environmental Medicine and Safety Oxidative Stress Status in Lead Exposed Workers The Turkish Journal of Occupational / Environmental Medicine and Safety*. 2016. **11**.
68. Yaman, O., et al., *Hyperbaric oxygen treatment in the experimental spinal cord injury model*. Spine J, 2014. **14**(9): p. 2184-94.
69. Smith, G.M., et al., *Astrocytes Infected with Replication-Defective Adenovirus Containing a Secreted Form of CNTF or NT3 Show Enhanced Support of Neuronal Populations in Vitro*. Experimental Neurology, 1996. **139**(1): p. 156-166.
70. Crowe, M.J., et al., *Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys*. Nat Med, 1997. **3**(1): p. 73-6.
71. Chen, A., et al., *Differential Proteomic Analysis of Acute Contusive Spinal Cord Injury in Rats Using iTRAQ Reagent Labeling and LC-MS/MS*. Neurochemical Research, 2013. **38**(11): p. 2247-2255.

72. Diop, M. and D. Epstein, *A Systematic Review of the Impact of Spinal Cord Injury on Costs and Health-Related Quality of Life*. Pharmacoeconomics - Open, 2024. **8**(6): p. 793-808.
73. Silva, N.A., et al., *From basics to clinical: A comprehensive review on spinal cord injury*. Progress in Neurobiology, 2014. **114**: p. 25-57.
74. ALLEN, A.R., *SURGERY OF EXPERIMENTAL LESION OF SPINAL CORD EQUIVALENT TO CRUSH INJURY OF FRACTURE DISLOCATION OF SPINAL COLUMN: A PRELIMINARY REPORT*. Journal of the American Medical Association, 1911. **LVII**(11): p. 878-880.
75. Coughlan, A.R., *Secondary injury mechanisms in acute spinal cord trauma*. Journal of Small Animal Practice, 1993. **34**(3): p. 117-122.
76. Hall, E.D. and D.L. Wolf, *A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanisms of posttraumatic spinal cord ischemia*. Journal of neurosurgery, 1986. **64**(6): p. 951-961.
77. Guest, J., et al., *Pathophysiology, Classification and Comorbidities after Traumatic Spinal Cord Injury*. Journal of Personalized Medicine, 2022. **12**(7): p. 1126.
78. Tian, C., et al., *Therapeutic Effects of Nrf2 Activation by Bardoxolone Methyl in Chronic Heart Failure*. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2019. **371**(3): p. 642-651.
79. Zeeuw, D.d., et al., *Bardoxolone Methyl in Type 2 Diabetes and Stage 4 Chronic Kidney Disease*. New England Journal of Medicine, 2013. **369**(26): p. 2492-2503.
80. Imai, T., et al., *Nrf2 activator ameliorates hemorrhagic transformation in focal cerebral ischemia under warfarin anticoagulation*. Neurobiology of Disease, 2016. **89**: p. 136-146.
81. Erel, O., *A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status*. Clinical Biochemistry, 2005. **38**(12): p. 1103-1111.
82. Erel, O., *A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation*. Clinical Biochemistry, 2004. **37**(4): p. 277-285.
83. Oruc, O.A., et al., *Protective effect of valproic acid on ischemia-reperfusion induced spinal cord injury in a rat model*. The Journal of Spinal Cord Medicine, 2024. **47**(5): p. 775-782.
84. Karatas, Y., et al., *Neuroprotective Effects of Tocilizumab on Experimentally-Induced Spinal Cord Ischemia-Reperfusion Injury*. World Neurosurgery, 2019. **124**: p. e208-e213.